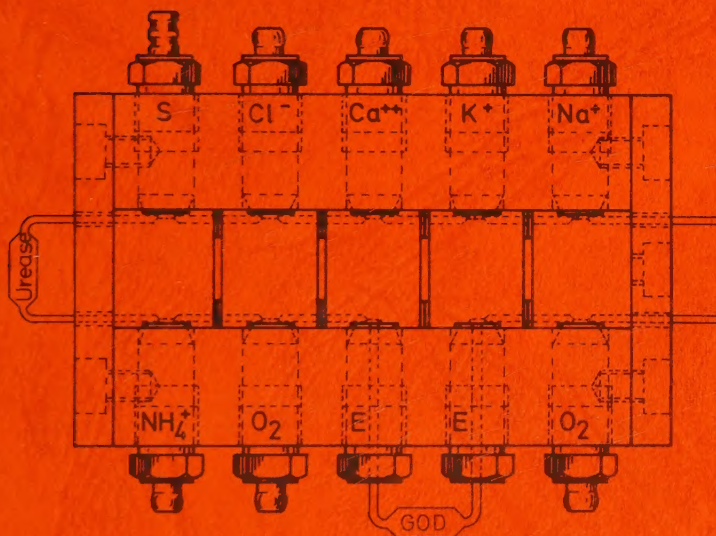


IONENSELEKTIVES UND ELEKTROCHEMISCH-ENZYMATISCHES MULTIMESSSYSTEM
MIT DISK-ELEKTRODEN UND NEUTRALEN CARRIERN
ZUR INTENSIVMEDIZINISCHEN ELEKTROANALYTIK



1977

Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn



Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

IONENSELEKTIVES UND ELEKTROCHEMISCH-ENZYMATISCHES MULTIMESSSYSTEM
MIT DISK-ELEKTRODEN UND NEUTRALEN CARRIERN
ZUR INTENSIVMEDIZINISCHEN ELEKTROANALYTIK

Johannes Georg Schindler



Dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg/Lahn
als Habilitationsschrift zur Erlangung der *venia legendi* vorgelegt
Dezember 1977



Das Forschungsprojekt "MEDIZINISCHE ELEKTROANALYTIK" wird durch die Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. im Rahmen einer Koordinierten Forschung mit dem Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität in Marburg/Lahn gefördert.

"NUR DER VERSUCH IST SCHLÜSSIG,
NIEMALS DIE UNBEWIESENE BEHAUPTUNG."

R. BOYLE

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung

I. Disk-Elektroden

1. Schindler, J.G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Techn. 20 (1975), 75.
2. Schindler, J.G., W. Riemann: Ionenselektive Elektrode (Ionenselektive Scheiben-Elektrode). Deutsche Patent-Anmeldung P 25 03 176.9; Deutsche Gebrauchsmuster-Anmeldung G 75 02 276.3; Offenlegungsschrift 25 03 176. Auslandsanmeldungen: USA (652 349), Großbritannien (02939/76), Frankreich (76.02033), Niederlande (7600828), Japan (6714/76), Schweiz (000885/76), Österreich (A 477/76).
3. Schindler, J.G., W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. Biomed. Techn. 20 (1975), 76.
4. Schindler, J.G., W. Riemann, W. Schäl: Kaliumselektive Scheiben-Elektrode mit Valinomycin für Durchflußmessungen. Biomed. Techn. 21 (1976), 135.
5. Schindler, J.G., G. Stork, H.-J. Strüh: Über den Einfluß von Weichmachern auf die Charakteristika der Kalium-Valinomycin-Diskelektrode. Im Druck.
6. Schindler, J.G., G. Stork, H.-J. Strüh: Optimierung einer Kalium-Valinomycin-Diskelektrode. Im Druck.
7. Schindler, J.G., W. Riemann, W. Schäl: Chloridselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. Biomed. Techn. 21 (1976), 149.
8. Schindler, J.G., A. Mönnich, W. Riemann, H.E. Braun: Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode. Biomed. Techn. 22 (1977), 209.
9. Schindler, J.G.: Einstab-Meßkette für die elektrochemische Analyse (Multi-Disk-Elektrode). Deutsches Gebrauchsmuster GM 76 37 650.

II. Ionenselektive Siloxane

1. Schindler, J.G., G. Stork, H.-J. Strüh, W. Schäl: Siloxanverbindungen als aktive Komponenten in ionenselektiven Elektrodenmembranen. Im Druck.

III. Elektrochemisch-enzymatische Meßverfahren: β -D-Glucose und Harnstoff

1. Schindler, J.G., W. Riemann, D. Sailer, G. Berg, W. Schäl: Ein Durchflußmeßsystem zur O_2 -sensitiv-enzymatischen Glucose-Analyse. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 15 (1977), 709.
2. Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz: Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse von Harnstoff. Teil I: Ammoniumselektive Disk-Elektrode mit dem Carrier-Antibiotikum Monactin. Im Druck.

3. Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz: Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse von Harnstoff. Teil II: Ein NH_4^+ -selektiv-enzymatisches Durchflußsystem. Im Druck.

IV. Elektroanalytisches Multimeßsystem

1. Schindler, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase. Biomed. Techn. 22 (1977), 235.

V. Tierexperimentelle Anwendungen

1. Steffen, Ch., J.G. Schindler, O. Aziz: Ionisiertes Calcium im Pankreassaft des Hundes: Fortlaufende Registrierung mit einer Scheibenelektrode. Biomed. Techn. 21 (1976), 188.
2. Steffen, Ch., J.G. Schindler: Calcium Movements in Dog Exocrine Pancreas: Influence of Secretin and Pancreozymin. 18. Spring Meeting, March 16-18, 1977, in Mainz. Abstracts: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, Suppl. II to Vol. 297 (1977), R42 (167).

VI. Klinisch-chemische Elektrolytbestimmungen im Serum mit neutralen Kationen-Carriern

1. Maier, H., A. Röckel, A. Heidland, D. Schneider, Ch. Steffen, O. Aziz, R. Dennhardt, H.-O. Lindt, J.G. Schindler: Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit calciumselektiver Disk-Elektroden mit elektrisch geladenen und neutralen Liganden bei anaeroben Serummessungen. Res. exp. Med., im Druck.
2. Schindler, J.G., H.K. Dürr, W. Riemann, H.-E. Braun, V. Kellner: Ionenselektive Disk-Elektroden mit neutralen Kationen-Carriern für die automatisierte Elektroanalyse des Serums. Im Druck.

VII. Verfahren zur intensivmedizinischen elektroanalytischen Patientenüberwachung

1. Schindler, J.G., R. Dennhardt, W. Simon: Kontinuierliche ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessung am Menschen. Hämoanalyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose. Chimia 31 (1977), 404.
2. Schindler, J.G., O. Aziz: Vorrichtung zur fortlaufenden elektrochemischen Analyse von Flüssigkeiten (Kontinuierliche ionenselektive Messung mit Disk-Elektroden im Ultrafiltrat des Blutes). Deutsche Gebrauchsmusteranmeldung G 77 18 736.1.
3. Dennhardt, R., J.G. Schindler, O. Aziz, R. Hoffmann, W. Riemann: Kontinuierliche Messungen am Patienten mit ionenselektiven Disk-Elektroden. Zentraleuropäischer Anaesthesie-Kongress 1977 in Genf. Abstracts (1977), 175/12.

4. Schindler, J.G., W. Schäl: Elektrode für die elektrochemische Analyse (Teleskop-Katheterelektroden-System). Deutsche Patent-Anmeldung P 27 26 450.2; Deutsche Gebrauchsmuster-Anmeldung G 77 18 518.3.

VIII. Künstliche Organe mit elektroanalytischen Sensoren

1. Schindler, J.G., W. Schäl: Künstliche endokrine Drüse (Künstliche Pankreas-Betazelle, Künstliche Parathyreoidea) Deutsche Patent-Anmeldung P 27 37 922.2; Deutsche Gebrauchsmuster-Anmeldung G 77 26 085.6.
2. Schäl, W., J.G. Schindler: Tragbare künstliche Niere. Deutsche Patent-Anmeldung P 27 34 248.9.

Zusammenfassung

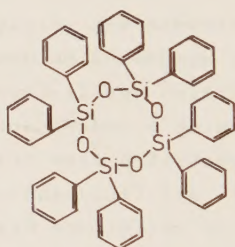
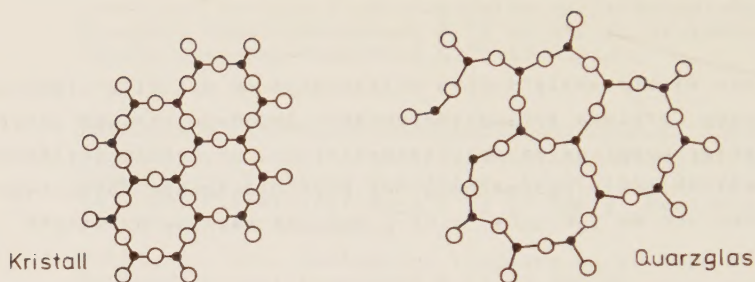
Es wurde ein elektroanalytisches Multimeßsystem mit Disk-Elektroden und neutralen Carriern zur patientennahen Serumanalyse und unter biokompatibler Kopplung an den Blutkreislauf zur kontinuierlichen intensivmedizinischen Überwachung der physiologischen Homöostase des Menschen von Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- , β -D-Glucose und Harnstoff entwickelt.

I. Disk-Elektroden: Disk-Elektroden mit acrylglasummantelten Pt-Drahtstirnflächenkontakten zu ausgewählten Membransystemen mit synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carriern (Na^+ , Ca^{++}), Träger-Antibiotika Valinomycin (K^+) und Nonactin (NH_4^+) sowie elektroaktiven Phasen (Cl^-) gestatten eine trägheitsarme reagen-tienlose und weitgehend druck- und flußunabhängige Analyse phy-siologisch wichtiger Ionen. Die selektiven Eigenschaften von Transport-Molekülen in Elektrodenmembranen lassen sich durch Lösungsmittel bzw. Weichmacher erheblich beeinflussen.

II. Ionenselektive Siloxane: Mit Siloxanen wurde eine neue Substanzklasse für aktive Komponenten - offenkettig, cyclisch, polymer - in Elektrodenmembranen gefunden. So zeigt Octaphenyl-cyclotetrasiloxan in einer PVC-Matrix mit dem Lösungsmittel Cyclohexanon und dem Weichmacher Tris(2-äthylhexyl)-phosphat vorzugsweise für Protonen und Lithiumionen elektromotorisches Verhalten.

Im Gegensatz zur Inhomogenität des von Silicium- und Sauerstoff-Atomen gebildeten Tunnelsystems ionenselektiver Gläser lassen sich durch Verwendung von Siloxanen als aktiven Komponenten selektivhomogene Kunststoffe entwerfen (Abb. 1).

III. Elektrochemisch-enzymatische Meßverfahren: β -D-Glucose und Harnstoff: O_2 -sensitiv-enzymatische Differenzmessungen von β -D-Glucose vor und hinter einem GOD-Reaktor erlauben eine



Octaphenylcyclotetrasiloxan

Abb. 1

Strukturformel von Octaphenylcyclotetrasiloxan und Ausschnitte aus Kristall- und Quarzglasstrukturen. Schwarze Kugeln: Si-Atome; von den vier Bindungen der Si-Atome wurden nur drei dargestellt. Weiße Kugeln: O-Atome.

aus anderen Gründen als der hochspezifischen Enzymreaktion resultierende Partialdruckänderung des Sauerstoffes zu korrigieren. Die leckstromsicher bei circa 395 °C aufgeschweißten PTFE-Membranen tragen erheblich zur Betriebssicherheit gassensitiver Elektroden bei.

Bei der NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Harnstoffanalyse kann nach schwimmend durchgeführter Harnstoffspaltung mit löslicher Urease die hohe Querempfindlichkeit für K^+ des Carrier-Antibiotikums Nonactin selbst bei physiologisch niedrigem Harnstoffpegel des Blutes ausreichend kompensiert werden. Die geringen Unterschiede in den Ionenradien von NH_4^+ ($r_{\text{Ion}} 1,48 \text{ \AA}$) und K^+ ($r_{\text{Ion}} 1,33 \text{ \AA}$) be-

dingen die für diese Ionen auffallend große Querempfindlichkeit von ionenselektiven Elektrodenmembranen mit den Carrier-Antibiotika Nonactin und Valinomycin. Die praktische Konsequenz für eine Korrekturmessung mit einem kaliumselektiven Sensor erfordert daher eine Verlegung seines Meßstellenplatzes vor den Urease-Reaktor, eine Maßnahme, die bei ausreichend langer Reaktionszeit mit näherungsweise 100%-igem Substratumsatz überflüssig ist. Da der Komplexierungsvorgang in gewisser Hinsicht dem Prinzip der optimalen Hohlraumanpassung folgt, besteht andererseits als Funktion des Ionenradius nur eine geringe Transportkonkurrenz gegenüber Na^+ ($r_{\text{Ion}} 0,95 \text{ \AA}$), Ca^{++} ($r_{\text{Ion}} 0,99 \text{ \AA}$) und Mg^{++} ($r_{\text{Ion}} 0,65 \text{ \AA}$).

IV. Elektroanalytisches Multimeßsystem: Es wurde ein elektroanalytisches Multimeßsystem zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase mit in Reihe geschalteten Sensoren entwickelt, die ebenso wie der Stromschlüsselkontakt-Stecker mit mikrogekerbtem PTFE-Stopfen als monokapillarer Stromschlüsselkontaktzone austauschbar sind; mittels eines Drehmomentschlüssels werden sie dichtend gegen die Berandung von strömungsgünstigen, wannenförmig abgeflachten Durchflußkammern an der Oberfläche parallelepipedischer Isolierkörper angezogen und über radiale Kanäle angeströmt. Ein Metallrahmen übernimmt die Abschirmung gegenüber elektrostatischen Aufladungen. Derzeitig sind mit diesem nach dem Baukastenprinzip konzipierten Analysensystem gleichzeitig ionenselektive, gassensitive und elektrochemisch-enzymatische Messungen möglich.

V. Tierexperimentelle Anwendungen: Überall dort, wo fortlaufende Messungen zur Verfolgung kinetischer Abläufe erforderlich sind, erweisen sich elektrochemische Sensoren als hervorragende Detektoren. Mit einer calciumselektiven Disk-Elektrode konnte im Pankreassaft des Hundes eine Wirkung von Pankreozymin auf die Konzentration des ionisierten Calciums unter Basisstimulation mit Sekretin nachgewiesen werden.

VI. Klinisch-chemische Elektrolytbestimmungen im Serum mit neutralen Kationen-Carriern: Das Konkurrenzverhalten von Calcium-

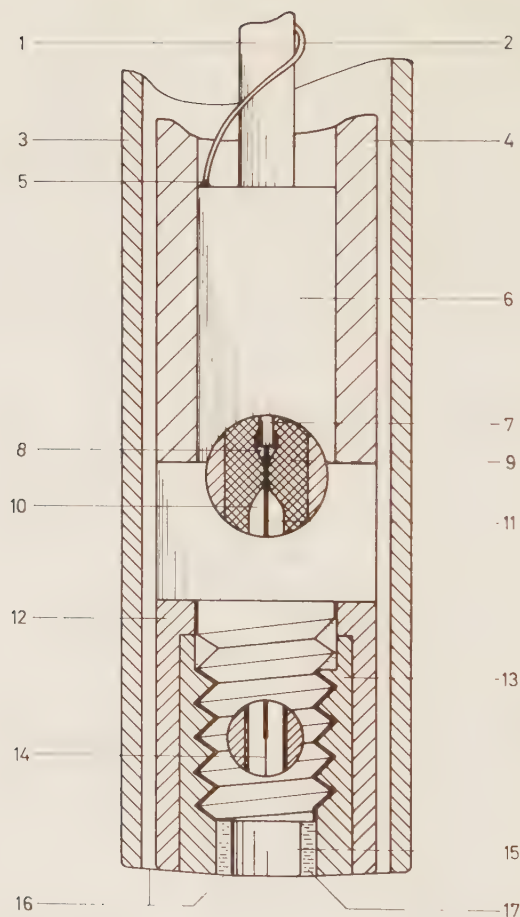


Abb. 2
pO₂-Teleskop-Katheter

- | | |
|--|---|
| 1 PTFE-isolierte, versilberte
Cu-Litze für die Pt-Kathode | 10 Glasmantel |
| 2 Kabel (1) zur Ag-Anode | 11 100 µm Pt-Draht ad 14 |
| 3 Perikatheter | 12 PTFE-Mantel für 13 |
| 4 Endokatheter | 13 Ag-Kern der abschraubbaren Kappe |
| 5 Lötstelle | 14 15 µm (φ) Pt-Draht (Kathode) |
| 6 Ag mit Verbindung zu 15 | 15 Ag-Anode |
| 7 Versilberte Cu-Litze | 16 Korrespondierende 12 µm starke
auf Endo- und Perikatheter
geschweißte PTFE-Membranen |
| 8 Lötstelle | 17 Innenelektrolytlösung (0,2 m KCl) |
| 9 Vergußmasse | |

ionen und Protonen um freie Valenzen der Proteine erfordert zur Bestimmung des ionisierten Calciums eine anaerobe Messung. Paradebeispiel für diesen Zusammenhang sind die alkalotischen Tetanien durch respiratorische (Hyperventilation) und metabolische Alkalosen (Erbrechen, Bicarbonatschnellinfusionen zur Korrektur schwerer Acidosen). pCa-Disk-Elektroden mit dem synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carrier N,N'-Di C(11-äthoxycarbonyl)undecyl]-N,N',4,5-tetramethyl-3,6-dioxaoctanamid als aktiver Komponente entfalten bei anaeroben Serummessungen eine erhebliche Leistungssteigerung gegenüber den früher verwandten elektrisch geladenen Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren.

Dagegen gestatten ionenselektive aerob durchgeführte Messungen von Natrium und Kalium einen flammenphotometrischen Vergleich. Ein zweikanaliger elektroanalytischer Meßkopf zwecks höheren Probendurchsatzes arbeitet in der automatischen Serumanalyse mit ionenselektiven Disk-Elektroden und elektrisch neutralen Carriern für Ca^{++} und Na^+ sowie dem Träger-Antibiotikum Valinomycin für K^+ mit einer Anzeigegeschwindigkeit von 30 s und einer Reproduzierbarkeit des Meßsignals derselben Serumprobe mit dazwischenliegender Einpunkteichung durch wäßrige Standards von circa 1%.

Da bei ständiger Perfusion mit einer bevorrateten Meßionenlösung das System nach Eichung sofort einsetzbar ist, scheint dieses Verfahren unter dem Aspekt einer intensivmedizinischen Anwendung zur patientennahen Elektroanalyse physiologisch wichtiger Kationen einen besonderen Stellenwert einnehmen zu können.

VII. Verfahren zur intensivmedizinischen elektroanalytischen Patientenüberwachung: Das elektrochemische Multimeßsystem für Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- , β -D-Glucose und Harnstoff wird zur kontinuierlichen patientendirekten Hämooanalyse biokompatibel an austauschbare Dialyse- oder Ultrafiltrationskammern mit Sterilfiltrationsmembranen gekoppelt, so daß eine Funktionsbeeinträchtigung der Sensoren auf Grund einer Proteinkontamination vermieden wird und die unklare Toxikologie der verschiedenen Membrankomponenten ionenselektiver Kunststoffe keiner Klärung bedarf. Durch einen relais-gesteuerten Eichvorgang werden unter

ausgebildeter unsteriler Endokatheter teleskopartig eingeschoben. Es handelt sich um ein kostensparendes Verfahren, bei dem der Perikatheter als steriler Einmalartikel ausgebildet ist. In Abb. 2 ist ein derartiges System zur Messung von pO_2 dargestellt.

VIII. Künstliche Organe mit elektroanalytischen Sensoren:

Elektrochemische Meßsysteme sind wichtige Bestandteile in der Konzeption künstlicher endokriner Drüsen wie Pankreas-Betazelle oder Parathyreoidea bzw. auch verbesserter künstlicher Nieren und deren tragbarer Varianten.

Es existiert eine verblüffende Analogie zwischen dem Meßprinzip physiologischer und elektrochemischer pCO_2 -Sensoren. Beiden ist ein CO_2 -durchlässiges Membransystem vorgeschaltet, hinter dem mit protonensensiblen Rezeptoren eine im "Innenlösungsraum" induzierte pH-Verschiebung registriert wird (Abb. 3).

Ist jedoch die Zeit Δt zwischen dem ersten Stop-Signal (i, 2,) und dem darauffolgenden Impuls (i, 3,) kleiner als die Zeit τ_3 , das heißt, folgt in der Zeit τ_3 ein zweiter Impuls, so bekommen die Koinzidenzschaltungen 4 und 5 vom Impulzzähler eine Null (j), und beide Koinzidenzschaltungen werden gesperrt.

Nur ein manuelles Start-Signal für den langsamen Vortrieb setzt den Impulzzähler wieder in die Aus-

gangsposition und ermöglicht damit eine erneute Aktionsimpulsuche.

In dem Bild 7 ist die Steuerungseinheit mit ihren unterschiedlichen Bedienungselementen zu erkennen. Die beiden Zahlenschalter im Bild rechts ermöglichen die Einstellung der Eindringtiefe für den schnellen und langsamen Vortrieb, während die beiden Segmentanzeigen auf der linken Seite der Frontplatte jeweils die momentane Tiefe angeben. Das Gerät hat sich in seiner Funktion nach einer längeren Erprobungszeit in eigenen neurophysiologischen Experimenten sehr gut bewährt.



Bild 7. Darstellung der vollständigen Steuerungseinheit des Mikro-elektroden-Vortriebes

Literatur:

- [1] Dean, K. J.: Transistors Theory and Circuitry. McGraw-Hill Book Company, London, 1964.
- [2] Graeme, J. G., und Gene, E. T.: Operational Amplifiers, Design and Application. McGraw-Hill Book Company, New York, 1971.
- [3] Tietze, U., und Schenk, Ch.: Halbleiterschaltungstechnik. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1971.
- [4] TTL-Kochbuch. Herausgegeben von der Firma Texas Instruments, 1972.

Anschrift der Verfasser:

Institut für Biokybernetik und
Biomedizinische Technik
7500 Karlsruhe, Kaiserstr. 12

Kurzberichte

Unter „Kurzberichte“ werden Arbeiten veröffentlicht, die in ihrem Umfang 2 Schreibmaschinenseiten (1½-zeilig) einschließlich Literatur und Bildmaterial (nur Strichzeichnungen) nicht überschreiten. Eine Veröffentlichung wird innerhalb von 3 Monaten erfolgen.

Scheiben-Elektrode

Unter Berücksichtigung der Erkenntnisse über Drahtüberzugelektroden [1, 2] wurde die Scheiben-Elektrode entwickelt. Ihr allgemeines Konstruktionsprinzip wird an Hand einer Einstabmeßkette erläutert, die neben ihrer Eignung für Durchflußmessungen eine schnelle Umrüstung zur stationären Messung gestattet (Bild 1).

Am unteren Ende des Elektrodenkopfes ist der zylindrische aus PTFE bestehende Elektrodenkörper fixiert. Die Meßelektrode besteht aus einem in PTFE eingepreßten wahlweise acrylglas-ummantelten Platindraht, der mit dem Boden einer napfförmigen Vertiefung abschließt oder mit seiner Stirnfläche nochmals von dieser Oberfläche zurücktritt. Diese Vertiefung wird mit der ge-

wünschten selektiven Substanz — aktive Phase in geeigneter Matrix — ausgefüllt. Der Potentialableitung vom scheibenförmigen Sensor dient die freie Stirnfläche eines Platindrahtes. Diese Miniaturisierung ermöglicht eine Bündelung vieler Elektroden auf engstem Raum. Bezüglich des Ableitdrahtes besteht die Möglichkeit, Platin durch andere leitfähige, geeignete Materialien zu ersetzen.

Für die neu gestaltete Kontaktzone zwischen Meß- und Bezugslösung, einem äußerst störanfälligen Glied bei Elektrodenmeßketten, wurden zwei Möglichkeiten erfolgreich erprobt. Durch Einpressen eines mit einer Mikrokerbe versehenen PTFE-Stopfens in die aus demselben Material bestehende Bodenplatte der Bezugslektrode oder durch Aufschweißen einer PTFE-Membran mit Mikroleck wurde eine Ausflußrate der Bezugslösung von weniger als $2,6 \times 10^{-6} \mu\text{l/sec}$ erreicht. Meßelektrode und Ausstromöffnung für die Bezugslösung können im Abstand von weniger als 1 mm zueinander liegen. Anordnung und Ausführung der Kontaktzone erwiesen sich als wenig störanfällig,

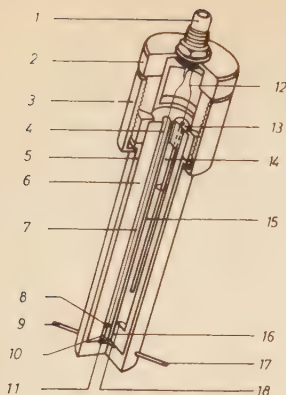


Bild 1. Scheiben-Elektrode

- 1 Amphenolstecker
- 2 Elektrodenkopf
- 3 Überwurfmutter mit Bajonettverschluß
- 4 Durchführungs kanal für versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 5 Verlängerter Kunststoffmantel der abnehmbaren Durchflußkammer
- 6 Elektrodenkörper aus PTFE
- 7 Versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 8 Acrylglas-Ummantelung des Platindrahtes
- 9 Meßkammerzulauf
- 10 Platindraht zur Potentialableitung vom scheibenförmigen Sensor
- 11 Scheibenförmiger Sensor
- 12 Versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 13 Deckplatte der Bezugslösungsvorratskammer aus Acrylglas mit Durchführungen für die Bezugselektrode und den Zuleitungsschlauch für die Bezugslösung
- 14 Vorratskammer für die Bezugslösung
- 15 Bezugslösung
- 16 PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder verschweißte PTFE-Membran mit Mikroleck
- 17 Meßkammerabfluß
- 18 Wannenförmige Durchflußkammer

zumal die Bezugselektrode bei EMK-Messungen eine Hauptstörsquelle darstellt und die Kontaktzone vom Standpunkt der Reproduzierbarkeit am anfälligsten ist.

Selektiver Sensor und Kontaktzone zwischen Meß- und Bezugslösung werden durch einen wannenförmigen Kanal mit einem Füllvolumen von weniger als 3 µl der abschraubbaren Durchflußkammer — dies ermöglicht einen schnellen Umbau zur stationären Messung — angeströmt. Im Durchfluß läßt sich die Einstabmeßkette sogar mit einer Rollerpumpe betreiben, wobei das Meßgut zuerst den selektiven Sensor passiert.

Auf Grund unproblematischer Handhabung, Robustheit, trockener Aufbewahrung, langer Lebensdauer und minutenschneller Einsatzbereitschaft erscheint die Scheiben-Elektrode für den Routine-laborbetrieb geeignet. Sie ist als Ein- und Mehrstabsmeßkette konstruierbar und ein Kombinationstyp für Durchfluß- und stationäre Messungen sowie ein Prototyp für Multimeßketten und Katheterelektroden bis hin zu Multikatheterelektroden.

Literatur

- [1] Cattrall, R. W., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 43 (1971), 1905.
- [2] James, H., Carmack, G., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 44 (1972), 856

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler und
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
355 Marburg-Lahn, Lahnberge

Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen

Der Sensor der Scheiben-Elektrode [8] wird mit dem Ca-Salz der Didecylphosphorsäure in Diocetylphenylphosphonat [7], Orion Nr. 92-20-02, in PVC-Matrix [2, 3] beschichtet, so daß die Einstabmeßkette für Durchflußmessungen calciumselektiv reagiert. Die Ag/AgCl-Bezugselektrode war mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllt. Die Einstabmeßkette wurde mit einer Rollerpumpe betrieben, wobei das Meßgut zuerst den selektiven Sensor passiert.

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für zweiwertige Ionen beträgt bei 20 °C 29,083 mV/Aktivitätsdekade. Die hier untersuchte calciumselektive Durchflußelektrode zeigt eine Potentialänderung von 28,0 mV/Aktivitätsdekade in reinen CaCl₂-Lösungen. Die Elektrodensteigung war zwischen 10⁻¹ und 10⁻⁴ Mol CaCl₂/l linear.

Die Anzeigegeschwindigkeit liegt in reinen 10⁻³ und 10⁻⁵ M Lösungen bei circa 30 sec/Aktivitätsdekade. Unter diesen Bedingungen ließ sich eine Meßgenauigkeit von ± 0,4 mV und besser erzielen.

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt. Wäßrigen Lösungen von 10⁻² und 10⁻³ Mol CaCl₂/l wurden Störionenkonzentrationen von 150 mval Na/l beziehungsweise 150 mval K/l oder 150 mval Mg/l als Chlorid zugesetzt. Unter Berücksichtigung des nicht idealen Verhaltens der verwandten Lösungen — der Aktivitätskoeffizient kann nur bei Ionenstärken unter 10⁻³ Mol/l etwa gleich 1 gesetzt werden — wurden Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der nach Kieland angegebenen Formel [4] berechnet. Folgende Selektivitätskonstanten wurden ermittelt:

$$K_{Ca-Na} = 9,5 \times 10^{-3}, K_{Ca-K} = 3 \times 10^{-4}, \\ K_{Ca-Mg} = 1,8 \times 10^{-3}$$

Die Potentialmessungen wurden mit dem Digital-pH-Meter E 500 der Firma Metrohm, Herisau (Schweiz), durchgeführt.

51

Int. Cl. 2:

G 01 N 27/30

19 **BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND**

A 61 B 5/04

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 25 03 176 A1

11

Offenlegungsschrift **25 03 176**

21

Aktenzeichen:

P 25 03 176.9

22

Anmeldetag:

27. 1. 75

43

Offenlegungstag:

29. 7. 76

30

Unionspriorität:

32 33 31

—

54

Bezeichnung:

Ionenselektive Elektrode

71

Anmelder:

Schindler, Johannes Georg, Dr.Dr.; Riemann, Werner; 3550 Marburg

72

Erfinder:

gleich Anmelder

PATENTANWALT
DR. HEINRICH HERMELINK
8 München 60, Apolloweg 9, Tel. 8 11 4570

München, den 8. März 1976
101/003-009

Auslandsanmeldungen zur deutschen Patentanmeldung P 25 03176.9
"Ionenselektive Elektrode"

Beanspruchung der Priorität vom 27. Januar 1975

=====

unser Aktenzeichen	Land	Anmeldetag	amtliches Aktenzeichen
101/004	Großbritannien	26.1.1976	2939/76
101/003	U S A	26.1.1976	652 349
101/005	Frankreich	26.1.1976	76 02 033
101/006	Niederlande	27.1.1976	7600828
101/007	Japan	26.1.1976	6714/76
101/008	Schweiz	26.1.1976	885/76
101/009	Österreich	23.1.1976	A 477/76

Ionenselektive Elektrode

Die Erfindung betrifft eine ionenselektive Elektrode, bei der eine ionenselektive Polymerschicht einerseits mit der Meßflüssigkeit und andererseits mit einem Draht mit geringem Driftpotential bezüglich der Polymerschicht in Berührung steht.

Ionenselektive Elektroden haben in letzter Zeit für elektrochemische Messungen verschiedener Art, insbesondere in der Physiologie, erhebliche Bedeutung gewonnen (vergl. K. Cammann, "Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden", Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973). Man unterscheidet Festkörpermembranelektroden und Flüssigmembranelektroden. Als weitere Entwicklung der letzteren können die Drahtüberzug-Elektroden angesehen werden (vergl. K. Cammann, Seite 106). Sie bestehen aus einem dünnen Platindraht, der mit einer Schicht Polyvinylchlorid (PVC) überzogen ist. Die PVC-Schicht ist mit der aktiven Phase, d. h. der Ionen-

selektiven Substanz, getränkt. Diese Elektroden sind im Vergleich zu den normalen Flüssigmembranelektroden mit innerem Elektrolyt leicht herzustellen und zu miniaturisieren, sowie lagenunabhängig. Das Selektivitätsverhältnis ist günstiger als bei entsprechenden Flüssigkeitsmembran-Elektrodentypen, die Ansprechzeit ist sehr kurz und die Lebensdauer wesentlich höher als bei normalen Flüssigkeitsmembranelektroden.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, derartige Elektroden hinsichtlich der Reproduzierbarkeit, Miniaturisierungsmöglichkeit und Vielseitigkeit der Anwendungen weiter zu verbessern.

Dies wird erfindungsgemäß dadurch erreicht, daß die Polymerschicht als an der Stirnfläche des Drahtes anliegendes Scheibchen ausgebildet ist.

Die mit der selektiven Substanz zu beschichtende Drahtoberfläche ist also auf die freie Stirnfläche des Drahtes - vorzugsweise eines Platindrahtes - verkleinert. Diese Miniaturisierung ermöglicht eine Bündelung vieler Elektroden auf engstem Raum.

Das aus dem Polymer bestehende Scheibchen kann auch die Stirnfläche des Platindrahtes überragen, um die Kontakt-

zone mit der Meßflüssigkeit zu vergrößern.

Dank der geringen benötigten Fläche können mehrere, mit verschiedenen selektiven Substanzen beschichtete Elektroden auf engstem Raum nebeneinander in einer gemeinsamen Meßkammer untergebracht werden, so daß mehrere Ionenaktivitäten in einem einzigen Arbeitsgang bestimmt werden können.

Die neue Elektrode eignet sich wegen ihrer geringen Abmessungen besonders zur Ausbildung als Katheter-elektrode bzw. zur Anbringung an bis auf wenige Millimeter lokalisierbaren Stellen, z. B. im lebenden Körper.

Weiter eignet sich die neue Elektrode wegen ihrer kleinen Abmessungen besonders gut zum Bau einer sogenannten Einstab-Meßkette, d. h. einer elektrochemischen Zelle, bei der die Meßelektrode und die Bezugselektrode nahe beieinander untergebracht sind. Solche Einstab-Meßketten sind besonders für Durchflußmessungen geeignet. Hier erhebt sich allerdings die Schwierigkeit, daß die bekannten Bezugselektroden einen im Vergleich zu der neuen Meßelektrode erheblichen Platzbedarf haben, so daß die angestrebte Miniaturisierung in dieser Hinsicht behindert wird.

Es sind zwar Bezugselektroden mit kapillarer Kontaktzone mit der Meßflüssigkeit bekannt, jedoch haben sich diese in der Praxis nicht bewährt, weil sie instabile Diffusionspotentiale zeigen. In der Fachwelt werden deshalb nur noch Bezugselektroden empfohlen, bei denen der die Stromleitung zum Anschlußdraht vermittelnde Stromschlüssel-Elektrolyt durch eine ungefettete Schliffverbindung in die Meßflüssigkeitaustreten kann (s. das erwähnte Buch von Cammann, Seite 47). Es muß dabei in Kauf genommen werden, daß die Ausflußrate des Stromschlüssel-Elektrolyten verhältnismäßig groß ist und deshalb die Meßlösung verunreinigt bzw. sogar vergiftet. Ferner muß der Stromschlüssel-Elektrolyt laufend zugeführt werden.

Demgemäß ergibt sich die weiterführende Aufgabe, die bekannten Bezugselektroden derart umzugestalten, daß trotz einer möglichst kleinen Kontaktzone ein stabiles Diffusionspotential erzielt wird.

Es wurde gefunden, daß dieses Ziel erreicht werden kann, wenn die Kontaktzone aus einer Mikrobohrung in einem Plättchen aus Polytetrafluoräthylen (PTFE) besteht.

Die Mikrobohrung kann beispielsweise so ausgeführt werden, daß an der Seitenwand eines Stopfens aus PTFE eine Mikro-

kerbe angebracht wird und daß dann dieser Stopfen in eine entsprechende Öffnung des aus PTFE bestehenden Elektrodenkörpers eingepreßt wird. Eine andere Lösung besteht darin, eine Membran aus PTFE auf den Elektrodenkörper aufzuschweißen und mit einem feinen Loch zu versehen, z. B. mittels eines Laserstrahls. Das so gebildete Mikroleck ist so klein, daß die Ausflußrate der Bezugslösung bei normalen Druckverhältnissen weniger als $2,6 \times 10^{-6}$ $\mu\text{l}/\text{sec}$ beträgt. Diese Ausführung der Kontaktzone erwies sich entgegen den bisherigen Erfahrungen der Fachwelt als wenig störanfällig, so daß das Bezugspotential auch bei längerem Gebrauch gut reproduzierbar war.

Die von der Ausströmöffnung gebildete Kontaktzone der so hergestellten Bezugselektrode kann im Abstand von weniger als 1 mm zur Meßelektrode liegen, so daß eine äußerst kompakte Anordnung einer Einstab-Meßkette geschaffen werden kann.

Die Verwendung der beschriebenen Bezugselektrode ist jedoch nicht auf den Einsatz zusammen mit der neuen Meßelektrode beschränkt, sondern kann auch mit Vorteil bei konventionellen Ein- und Mehrstab-Meßketten erfolgen.

Einstab-Meßketten werden zwar vorzugsweise für Durchflußmessungen verwendet, sind aber auch für stationäre Messungen vorteilhaft. Dies gilt erst recht für Einstab-Meßketten mit Multielektroden. Bei Durchflußmessungen, insbesondere im physiologischen und pathophysiologischen Bereich, muß häufig mit sehr geringen Elektrolytmengen gearbeitet werden. Eine zusätzliche Aufgabe besteht deshalb darin, eine Einstab-Meßkette mit den oben beschriebenen Meß- und Bezugselektroden zu entwickeln, die mit einfachen Mitteln sowohl für Durchflußmessungen, als auch für stationäre Messungen verwendbar gemacht werden kann und bei der gewährleistet ist, daß auch eine nur in kleinen Mengen verfügbarer Meßlösung in innige Berührung mit den Kontaktzonen der Elektroden gelangt.

Zu diesem Zweck ist nach einer Ausgestaltung der Erfindung an der Innenwand des Bodens einer abnehmbaren Hülse eine wannenförmige Durchflußkammer im Bereich der Kontaktzonen des von der Hülse umschlossenen Elektrodenkörpers ausgebildet und die Durchflußkammer ist über radiale Kanäle von der Außenwand der Hülse her zugänglich. Wenn also die Hülse abgenommen ist, kann die Einstab-Meßkette in ein Becherglas od. dgl. mit der Meßlösung eingetaucht werden. Wenn dagegen die Hülse auf den Elektrodenkörper aufgeschoben und beispielsweise mittels einer

Überwurfmutter oder eines Bajonettverschlusses befestigt ist, legt sich die Berandung der wannenförmigen Durchflußkammer dichtend gegen die Stirnfläche des Elektrodenkörpers und die Meßflüssigkeit kann durch die Kanäle zu- und abgeleitet werden, wobei sie dank der Abflachung der Durchflußkammer in innige Berührung mit der gesamten Meßzone gelangt.

Die Erfindung wird nachstehend an Hand der Zeichnung erläutert. Hierin sind

Fig. 1 ein Schaubild einer Einstab-Meßkette mit den neuen Elektroden,

Fig. 2 ein Längsschnitt derselben,

Fig. 3 eine Phantomdarstellung der abnehmbaren Hülse und

Fig. 4 eine Untersicht einer abgewandelten Ausführungsform der Meßkette bei abgenommener Hülse.

Die Hauptteile der dargestellten Meßkette sind der Elektrodenkopf 1 mit Durchführungen für einen Elektrodenstecker 2 und eine Zuleitung 3 für den Bezugsselektrolyt, die Hülse 4, die mittels einer Überwurfmutter 5 mit Schraubgewinde oder Bajonettverschluß an dem Elektrodenkopf 1 festgehalten wird, und der in der Hülse befind-

liche Elektrodenkörper 6 (Fig. 2). Im Bodenteil der Hülse 4 befinden sich die Schlauchanschlüsse 7 und 8, die zur Zu- und Abführung der Meßflüssigkeit dienen.

Der Elektrodenkopf 1 und die Überwurfmutter 5 bestehen z. B. aus Polyacryl oder Metall, die Hülse 4 aus Polyacryl und der Elektrodenkörper 6 aus PTFE.

Wie Fig. 2 erkennen läßt, besitzt der Elektrodenkörper 6 zwei zylindrische Längsbohrungen 9 und 10. Die Bohrung 9 dient zur Aufnahme der Bezugselektrode 11 aus Ag/AgCl, die durch einen Stopfen 12 am oberen Ende des Elektrodenkörpers durchgeführt und mittels eines Anschlußdrahtes 13 mit dem Masseanschluß 14 des Koaxial-Steckers 2 verbunden ist. Der Durchführungs^(stopfen)12 wird ferner von dem Ende 15 der Zuleitung 3 durchragt, durch die der Schlüsselelektrolyt (meist KCl) der Bezugselektrode zugeführt werden kann.

Die Bohrung 9 geht in Fig. 2 dargestellten Ausführungsbeispiel nicht ganz in vollem Ausmaß zur unteren Stirnfläche 16 des Elektrodenkörpers 6 durch, sondern setzt sich in einem engeren Loch 17 fort. Dieses Loch 17 ist mit einem eingepreßten Stopfen 18 aus PTFE verschlossen, der an einer Stelle seiner Umfangsfläche mit einer kleinen längsverlaufenden Kerbe 19 versehen ist, deren Tiefe

nicht mehr als 0,1 mm, vorzugsweise weniger als 0,05 mm beträgt. Die Kerbe hat einen solchen Strömungswiderstand, daß die Ausflußrate der Bezugslösung unter normalen Druckverhältnissen nicht mehr als etwa $5 \times 10^{-6} \mu\text{l/sec}$, vorzugsweise weniger als $2,6 \times 10^{-6} \mu\text{l/sec}$, beträgt.

Die Längsbohrung 10 hat eine geringere lichte Weite (z. B. 2 mm), da sie keine Flüssigkeit aufzunehmen hat. An ihrem unteren Ende befindet sich ein durchbohrter Stopfen 19 aus Polyacryl, in dessen Längsbohrung ein Platindraht 20 eingesetzt ist. An die innere Stirnfläche 21 des Platindrahtes ist ein Anschlußdraht 22 angelötet, der zu dem Innenleiter 23 des Anschlußsteckers 2 führt.

Der Stopfen 19 reicht nicht ganz bis zur Stirnfläche 16 des Elektrodenkörpers 6, sondern ist um etwa 0,1 bis 1 mm gegen diese zurückgesetzt. Der Platindraht 20 ist ebenfalls noch um einen geringen Abstand gegen die untere Stirnfläche des Stopfens 19 zurückgesetzt. In der so gebildeten napfförmigen Vertiefung befindet sich eine feste ionenselektive Substanz 24. Sie besteht vorzugsweise aus einer polymeren Matrix (z. B. PVC), in welche die aktive Phase eingelagert ist. Hierzu wird z.B. eine Lösung von PVC in Cyclohexanon in passendem Verhältnis (15%), mit der aktiven, für die gewünschten Ionen selektiven Phase gemischt, das Gemisch in die napfförmige Vertiefung eingefüllt und getrocknet.

Durch die geringe Zurücksetzung des Platindrahtes wird eine innige Berührung der selektiven Substanz mit dem Draht gewährleistet und die Gefahr eines unmittelbaren Kontakts des Drahtes mit Kriechspuren der Meßflüssigkeit verringert. Statt Platin kann auch ein anderes Material, das geringe Potentialdrift aufweist, für den Draht 20 verwendet werden.

Die Stirnfläche 16 des Elektrodenkörpers 6 bildet die eine Begrenzung einer im Boden der Hülse 4 ausgebildeten Durchflußkammer 25. Sie besitzt die Gestalt einer flachen, etwa 0,6 mm tiefen Wanne, deren Länge und Breite so gewählt sind, daß die Kontaktzonen der Meßelektrode und der Bezugselektrode vollständig in der Meßkammer liegen. Wenn wie im vorliegenden Beispiel der Abstand der beiden Kontaktzonen etwa 1 mm und der Durchmesser der Kontaktzone der Meßelektrode etwa 2 mm betragen, kann die Breite der Meßkammer ebenfalls 2 mm und ihre Länge 5 mm ausmachen.

In der Mitte der Schmalseiten der Meßkammer 25 münden radiale Kanäle 26 und 27, die dicht unterhalb der Innenwand des Hülsenbodens von außen so weit in die Hülse gebohrt sind, daß die Meßkammer 25 gerade angeschnitten wird. An die Kanäle 26 und 27 sind die äußeren Zu-

und Ableitungen 7 und 8 angeschlossen, und zwar wird vorzugsweise die Meßflüssigkeit über den Kanal 27 zugeführt und über den Kanal 26 abgeführt, so daß sie zuerst mit der Meßelektrode und dann mit der Bezugselektrode in Berührung kommt, um so jede Beeinflussung des Meßergebnisses durch den Bezugselektrolyt zu vermeiden.

Der Querschnitt der Meßkammer 25 ist etwa gleich demjenigen der Kanäle 26 und 27, so daß die Meßflüssigkeit mit gleichmäßiger Geschwindigkeit durchströmt, jedoch durch die flache Ausbildung der Meßkammer in ausgiebige Berührung mit der gesamten Kontaktzone kommt.

Um das richtige Aufschieben der Hülse auf den Elektrodenkörper derart zu gewährleisten, daß die Berandung der Meßkammer beide Elektroden dichtend umschließt, ist der Boden der Hülse 4 beiderseits der Meßkammer mit Vorsprüngen 28 (Fig. 3) versehen, die in entsprechende Aussparungen 29 (Fig. 4) des Elektrodenkörpers passen.

Fig. 4 zeigt noch eine Abwandlung der Ausbildung der Bezugselektrode: Statt des Stopfens 18 ist hier eine dünne Membran 30 aus PTFE auf die Stirnfläche 16 des Elektrodenkörpers aufgeschweißt, um die Öffnung 17 zu überdecken. In der Membran 30 ist ein kleines Loch 31 von höchstens etwa 0,01 mm Ø auf mechanischem oder elektronischem Wege an-

gebracht. Diese Lochgröße ermöglicht es auch bei dieser Ausführungsform, die oben angegebene Ausströmgeschwindigkeit einzuhalten.

Die beschriebene Meßkammerkonstruktion hat sich als relativ unempfindlich gegen Schwankungen der Strömungsgeschwindigkeit erwiesen, so daß die Meßkette sogar mit einer einfachen Schlauchrollerpumpe pulsierend betrieben werden kann.

Beispiel

Als aktive Substanz wurde das Calciumsalz der Didecylphosphorsäure in Dioctylphenylphosphonat gewählt. Die aktive Phase wurde in der oben beschriebenen Weise mit PVC gemischt und das Gemisch in die napfförmige Vertiefung der Meßelektrode eingebracht. Nach dem Trocknen wurde die Ag/AgCl-Bezugselektrode mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllt und die Hülse aufgeschoben. Man erhält so eine calciumselektive Einstab-Meßkette.

Die Meßkammer wurde derart mit einem Flüssigkeitsvorrat verbunden, daß das Meßgut zuerst die Meßelektrode passiert. Als Pumpe wurde eine handelsübliche Schlauchrollerpumpe verwendet.

Es wurde zunächst das Aktivitätspotential in reinen CaCl_2 -Lösungen durch Messungen mit verschiedenen Konzentrationen bestimmt. Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für zweiwertige Ionen beträgt bei 20°C 29,083 mV/Aktivitätsdekade. Mit der beschriebenen Durchflußmeßkammer wurde eine Potentialänderung von 28,0 mV zwischen 10^{-2} und 10^{-3} Mol CaCl_2/l gemessen.

Die Anzeigegeschwindigkeit liegt in reinen 10^{-2} und 10^{-3} Mol-Lösungen bei ca 30 sec/Aktivitätsdekade. Unter diesen Bedingungen ließ sich eine Meßgenauigkeit von $\pm 0,4$ mV und besser erzielen.

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt. Wässrige Lösungen von 10^{-2} und 10^{-3} Mol CaCl_2/l wurden Störionenkonzentrationen von 150 mval Na/l bzw. 150 mval K/l oder 150 mval Mg/l als Chlorid zugesetzt. Unter Berücksichtigung des nicht idealen Verhaltens der verwendeten Lösungen wurden aus den gemessenen Potentialänderungen folgende Selektivitätskonstanten ermittelt:

$$K_{\text{Ca-Na}} = 9,5 \times 10^{-3}, K_{\text{Ca-K}} = 3 \times 10^{-4}, K_{\text{Ca-Mg}} = 1,8 \times 10^{-3}$$

Demgegenüber findet man in der Literatur (s. Caemmann, Seite 98) folgende Werte für Flüssigmembranelektroden mit der gleichen aktiven Phase:

$$K_{\text{Ca-Na}} = 10^{-3}, K_{\text{Ca-K}} = 10^{-3}, K_{\text{Ca-Mg}} = 14 \times 10^{-3}.$$

Die Potentialmessungen wurden mit dem Digital-pH-Meter E 500 der Firma Metrohm (Herisau, Schweiz) durchgeführt.

Die beschriebene Elektrode und auch die mit ihrer Verwendung gebaute Meßkette eignen sich wegen ihrer Einfachheit und der relativ billigen Herstellungsmöglichkeit besonders auch als Einmal- und Wegwerfelektroden.

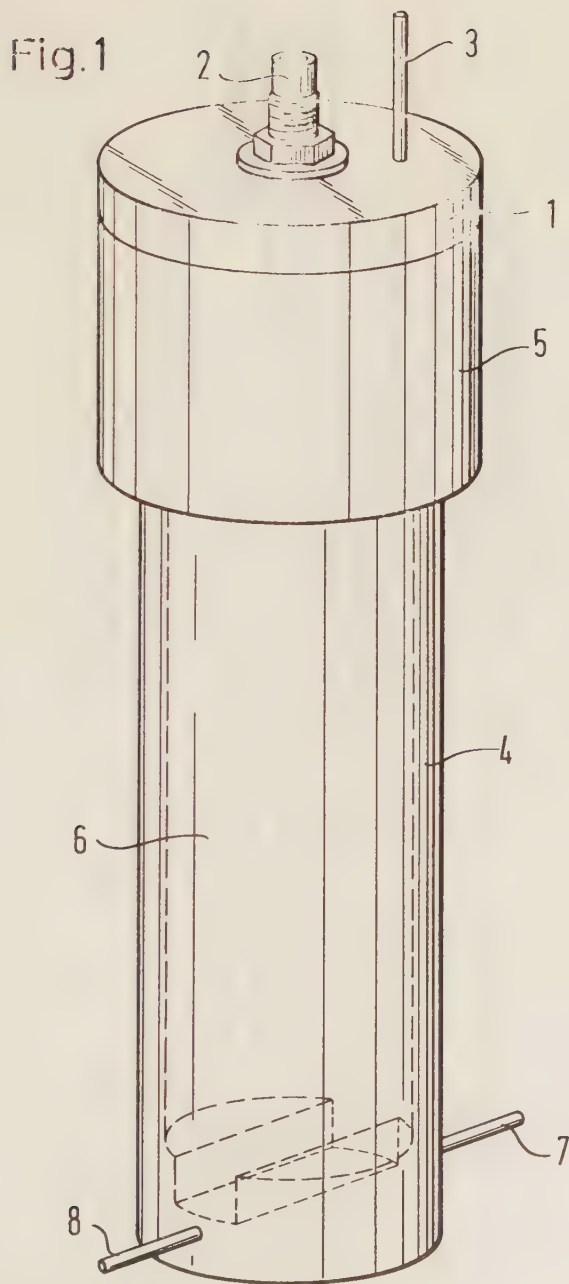


Fig.2

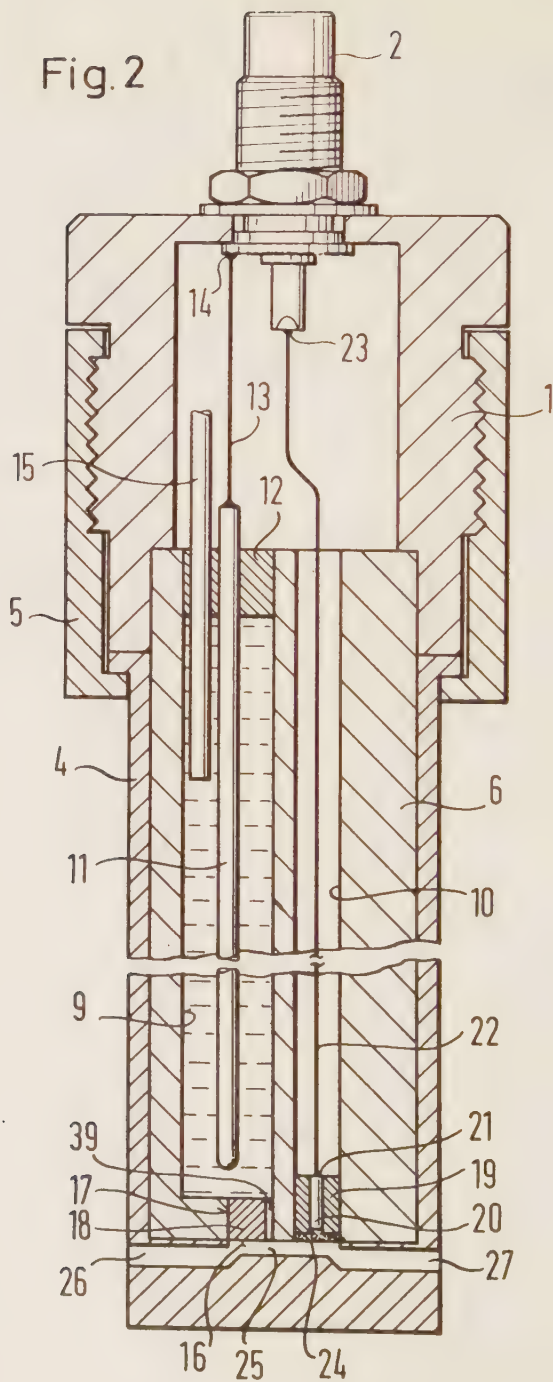


Fig.3

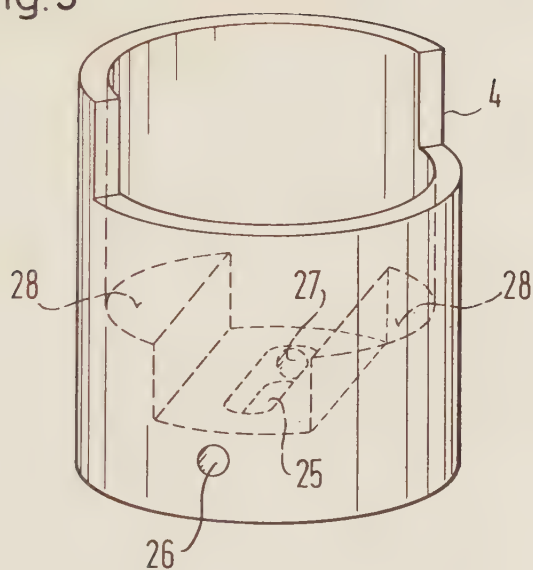
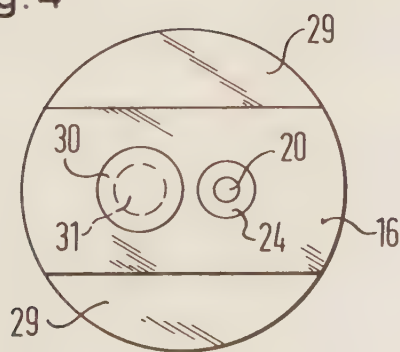


Fig.4



A n s p r ü c h e

1. Ionenselektive Elektrode, bei der eine Schicht eines ionenselektiven Polymers einerseits mit der Meßflüssigkeit und andererseits mit einem Draht mit geringem Driftpotential bezüglich der Polymerschicht in Berührung steht, dadurch gekennzeichnet, daß die Polymerschicht als an der Stirnfläche des Drahtes (20) anliegendes Scheibchen (24) ausgebildet ist.
2. Elektrode nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Scheibchen die Stirnfläche des Drahtes überragt.
3. Elektrode nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Scheibchen (24) in einer napfförmigen Vertiefung an der Oberfläche (16) eines Elektrodenkörpers (6), an deren Grund der Draht (20) endet, ausgebildet ist.

4. Elektrode nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens der an das Polymerscheibchen (24) anschließende Teil des Drahtes (20) von einem Isoliermantel (19) umgeben ist.
5. Elektrode nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Isoliermantel (19) etwas über die Stirnfläche des Drahtes (20) vorsteht.
6. Elektrode nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ihre Verwendung in einer elektrochemischen Meßanordnung mit mehreren, für unterschiedliche Substanzen selektiven Meßelektroden.
7. Elektrode nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ihre Verwendung in einem in den lebenden Körper einföhrbaren Katheter.
8. Elektrode nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ihre Verwendung in einer Einstab-Meßkette.
9. Bezugs elektrode mit kapillarer Kontaktzone, insbesondere für eine Einstab-Meßkette nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Kontaktzone aus einer Durchgangsöffnung (39, 31) in einem PTFE-Plättchen (18,30) besteht, die so klein

ist, daß die Ausflußgeschwindigkeit des Schlüssel-
elektrolyten bei normalen Druckverhältnissen und Zimmer-
temperatur weniger als 5×10^{-6} $\mu\text{l/sec}$, vorzugsweise
weniger als $2,6 \times 10^{-6}$ $\mu\text{l/sec}$ beträgt.

10. Bezugsselektrode nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchgangsöffnung (39) aus einer Kerbe am Umfang eines in einen Elektrodenkörper (6) aus PTFE eingepreßten PTFE-Stopfens (18) besteht, deren Tiefe nicht mehr als 0,1 mm, vorzugsweise höchstens 0,05 mm beträgt.
11. Bezugsselektrode nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchgangsöffnung aus einem mechanisch oder elektronisch erzeugten Loch (31) von höchstens etwa 0,01 mm $\varnothing$ in einer auf die Oberfläche des Elektrodenkörpers (6) aufgeschweißten Membran (30) aus PTFE besteht.
12. Einstab-Meßkette, insbesondere mit einer Meßelektrode nach Anspruch 1 und/oder einer Bezugsselektrode nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß Meßelektrode und Bezugsselektrode mit geringem Abstand nebeneinander an der gleichen Oberfläche (16) eines Elektrodenkörpers (6) angeordnet sind und daß diese Oberfläche eine Begrenzung einer flachen wannenförmigen Meßkammer (25) bildet, in deren Schmalseiten Zu- und Abflußkanäle (26, 27) münden.

13. Einstab-Meßkette nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Meßkammer und die Kanäle im Boden einer den Elektrodenkörper (6) umschließenden Hülse (4) ausgebildet sind und daß die Kontaktzonen der Meßelektrode und der Bezugselektrode sich an der Stirnseite des Elektrodenkörpers befinden.
14. Einstab-Meßkette nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Hülse (4) abnehmbar an dem Elektrodenkörper befestigt ist.
15. Einstab-Meßkette nach Anspruch 13 oder 14, gekennzeichnet durch zusammenwirkende Vorsprünge und Aussparungen (28, 29) an dem Elektrodenkörper und der Hülse zur Sicherung der richtigen Lage der Meßkammer in Bezug auf die Elektroden.

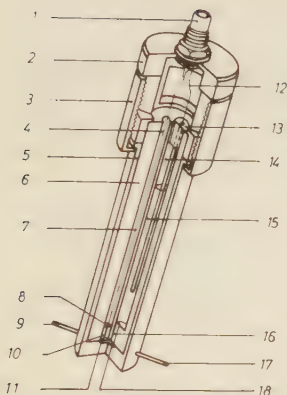


Bild 1. Scheiben-Elektrode

- 1 Amphenolstecker®
- 2 Elektrodenkopf
- 3 Überwurfmutter mit Bajonettverschluß
- 4 Durchführungschanal für versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 5 Verlängerter Kunststoffmantel der abnehmbaren Durchflußkammer
- 6 Elektrodenkörper aus PTFE
- 7 Versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 8 Acrylgas-Ummantelung des Platindrahtes
- 9 Meßkammerzufuß
- 10 Platindraht zur Potentialableitung vom scheibenförmigen Sensor
- 11 Scheibenförmiger Sensor
- 12 Versilberte, PTFE-isolierte Kupferlitze
- 13 Deckplatte der Bezugslösungsvorratskammer aus Acrylgas mit Durchführungen für die Bezugselektrode und den Zuleitungsschlauch für die Bezugslösung
- 14 Vorratskammer für die Bezugslösung
- 15 Bezugslösung
- 16 PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder verschweißte PTFE-Membran mit Mikroleck
- 17 Meßkammerabfluß
- 18 Wannenförmige Durchflußkammer

zumal die Bezugselektrode bei EMK-Messungen eine Hauptstörunqsquelle darstellt und die Kontaktzone vom Standpunkt der Reproduzierbarkeit am anfälligsten ist.

Selektiver Sensor und Kontaktzone zwischen Meß- und Bezugslösung werden durch einen wannenförmigen Kanal mit einem Füllvolumen von weniger als 3 µl der abschraubbaren Durchflußkammer — dies ermöglicht einen schnellen Umbau zur stationären Messung — angeströmt. Im Durchfluß läßt sich die Einstabmeßkette sogar mit einer Rollerpumpe betreiben, wobei das Meßgut zuerst den selektiven Sensor passiert.

Auf Grund unproblematischer Handhabung, Robustheit, trockener Aufbewahrung, langer Lebensdauer und minutenschneller Einsatzbereitschaft erscheint die Scheiben-Elektrode für den Routine-laborbetrieb geeignet. Sie ist als Ein- und Mehrstabmeßkette konstruierbar und ein Kombinationstyp für Durchfluß- und stationäre Messungen sowie ein Prototyp für Multimeßketten und Kathetererelektroden bis hin zu Multikathetererelektroden.

Literatur

- [1] Cattrall, R. W., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 43 (1971), 1905.
- [2] James, H., Carmack, G., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 44 (1972), 856.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler und
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
355 Marburg/Lahn, Lahnberge

Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen

Der Sensor der Scheiben-Elektrode [8] wird mit dem Ca-Salz der Didecylphosphorsäure in Dioctylphenylphosphonat [7], Orion Nr. 92-20-02, in PVC-Matrix [2, 3] beschichtet, so daß die Einstabmeßkette für Durchflußmessungen calciumselektiv reagiert. Die Ag/AgCl-Bezugselektrode war mit 3-molarer KCl-Lösung gefüllt. Die Einstabmeßkette wurde mit einer Rollerpumpe betrieben, wobei das Meßgut zuerst den selektiven Sensor passiert.

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für zweiwertige Ionen beträgt bei 20 °C 29,083 mV/Aktivitätsdekade. Die hier untersuchte calciumselektive Durchflußeletrode zeigt eine Potentialänderung von 28,0 mV/Aktivitätsdekade in reinen CaCl₂-Lösungen. Die Elektrodensteigung war zwischen 10⁻¹ und 10⁻⁴ Mol CaCl₂/l linear.

Die Anzeigegeschwindigkeit liegt in reinen 10⁻² und 10⁻³ M Lösungen bei circa 30 sec/Aktivitätsdekade. Unter diesen Bedingungen ließ sich eine Meßgenauigkeit von ± 0,4 mV und besser erzielen.

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt. Wäßrigen Lösungen von 10⁻² und 10⁻³ Mol CaCl₂/l wurden Störionenkonzentrationen von 150 mval Na/l beziehungsweise 150 mval K/l oder 150 mval Mg/l als Chlorid zugesetzt. Unter Berücksichtigung des nicht idealen Verhaltens der verwandten Lösungen — der Aktivitätskoeffizient kann nur bei Ionenstärken unter 10⁻³ Mol/l etwa gleich 1 gesetzt werden — wurden Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der nach Kieland angegebenen Formel [4] berechnet. Folgende Selektivitätskonstanten wurden ermittelt:

$$K_{Ca-Na} = 9,5 \times 10^{-3}, K_{Ca-K} = 3 \times 10^{-4},$$

$$K_{Ca-Mg} = 1,8 \times 10^{-3}$$

Die Potentialmessungen wurden mit dem Digital-pH-Meter E 500 der Firma Metrohm, Herisau (Schweiz), durchgeführt.

Auf Grund unproblematischer Handhabung, Robustheit, trockener Aufbewahrung, langer Lebensdauer und minutenschneller Einsatzbereitschaft erscheint die calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen für den Routinelaborbetrieb geeignet.

Literatur

- [1] Cammann, K.: Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973).
- [2] Catrall, R. W., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 43 (1971), 1905.
- [3] James, H., Carmack, G., Freiser, H.: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Analyt. Chem.* 44 (1972), 856.

- [4] Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 59 (1937), 1675.
- [5] Metrohm: Ionen-spezifische Elektrode (1971) (Firmenmodell 92—20 (1966) (Firmenschrift)).
- [6] Orion: Instruction manual, calcium ion electrode model 92—20 (Firmenschrift)
- [7] Ross, J. W.: Calcium-Selective Electrode with Liquid Ion Exchanger. *Science* 156 (1967), 1378.
- [8] Schindler, J. G., Riemann, W.: Scheiben-Elektrode. *Biomed. Technik.* 19 (1975)

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler und
W. Riemann

Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
355 Marburg/Lahn, Lahnberge

Kongresse/Veranstaltungen

Fortsetzung aus Heft 1/1975

5.—7. 6. **Wien** (Österreich)
16. Tagung der Österreichischen
Gesellschaft für Chirurgie
Auskunft: Prof. Dr. F. Helmer
II. Chirurgische Univ.-Klinik
Spitalgasse 23, A-1010 Wien 1

5.—7. 6. **Locarno** (Schweiz)
Jahresversammlung der
Schweizerischen Gesellschaft
für Chirurgie
Auskunft: Prof. L. Eckmann
Tiefenausspalt der Stadt Bern
CH-3004 Bern

5.—7. 6. **Lugano** (Schweiz)
Jahresversammlung der
Schweizerischen Gesellschaft für
Innere Medizin, Kardiologie,
Hämatologie und Nephrologie
Auskunft: PD Dr. med. F. Nager,
Chefarzt, Med. Klinik
Kantonsspital, CH-6004 Luzern

9.—13. 6. **Lindau**
25. Tagung der Nobelpreisträger,
IV. Tagung der Mediziner
Auskunft: Ständiger Arbeitsaus-
schuß für die Tagungen der
Nobelpreisträger
8990 Lindau, Postfach 1325

9.—13. 6. **Berlin**
Lehrgang über die Problematik
der Lärmbelastung
Auskunft: Sekretariat der
Akademie für Arbeitsmedizin,
1000 Berlin 19, Soorstraße 83/84

10.—23. 6. **Düsseldorf**
8. Deutscher Krankenhaustag
und internationale Krankenhaus-
ausstellung
Auskunft: Prof. Dr. H.-W. Müller
4000 Düsseldorf, Tersteegenstraße 9

12.—14. 6. **Höhenried/Bernried**
Symposium über Computer-
gerechte Datenerfassung zur
automatischen Elektrokardio-
gramm-Auswertung
Auskunft: Dr.-Ing. S. J. Pöppel
8000 München 81, Arabellastraße 4/I

15.—19. 6. **Atlantic City** (USA)
American Medical Association
Auskunft: Ernest B. Howard
MD, 535 N Dearborn St
Chicago 60610

15.—20. 6. **Zagreb** (Jugoslawien)
19^e congrès international de la
fédération internationale des
hôpitaux
Auskunft:
M. D. G. Harington Hawes
Directeur Général de la Fédération
Internationale des Hôpitaux
24 Nutford Place,
Londres W1H 6AN

15.—20. 6. **Toronto** (Canada)
1st World Congress for
Microcirculation
Auskunft: University of Toronto,
Toronto, Ontario, Canada M5S 1A8

16.—20. 6. **Hamburg**
26. Hauptversammlung der
Max-Planck-Gesellschaft
Auskunft: Max-Planck-Gesellschaft
8000 München 1, Postfach 647

18.—20. 6. **Bonn-Bad Godesberg**
Internationale Tagung des
Staubforschungsinstitutes
Auskunft: Staubforschungsinstitut
des Hauptverbandes der
gewerblichen Berufsgenossen-
schaften
5300 Bonn, Langwartweg 103

22.—26. 6. **Budapest** (Ungarn)
II. Internationaler Kongreß
für Atmungsfunktionen
Auskunft: MOTESZ,
1055 Budapest Kossuth, L. ter 4

22.—27. 6. **Edinburgh** (Schottland)
4^e congrès de l'association
européenne de radiologie
Auskunft: Prof. William Duncan
P.O. Box 14, 79 Lauriston Place
Edinburgh EH1 1DB

24.—29. 6. **Marburg**
Medikinale International —
Internationaler Wettbewerb für
medizinische Filme — Kinemato-
graphische Fortbildungsseminare

Auskunft: Medikinale Marburg
3550 Marburg, Schuhmarkt 4

26.—27. 6. **Frankfurt/M.**
Jahrestagung der Deutschen
Gesellschaft für chemisches
Apparatwesen
Auskunft: DECHEMA
6000 Frankfurt 97, Postfach 97 01 26

26.—29. 6. **Augsburg**
IV. Zentralkongreß für die
medizinischen Assistenzberufe
Auskunft: Zentrum für medi-
zini-sche Fortbildung
8900 Augsburg, Frohsinnstraße 2

29. 6.—4. 7. **Amsterdam** (Holland)
IX. European Surgical Congress
Auskunft: Sekretariat Europaplein
14, P.O. Box 7205
Amsterdam und DER

1.—7. 7. **Bilbao** (Spanien)
2nd European Congress on
Diseases of the Chest
Auskunft: Dr. Carlos Zurita
Amagrio 21, Madrid 4, Spanien

6.—11. 7. **Kopenhagen** (Dänemark)
13. Kongreß der Société Inter-
nationale de Chirurgie Orthopédique
et de Traumatologie (SICOT)
Auskunft: Dis Congress Service
Knabrostraede 3,
DK-1210 Copenhagen K

25.—30. 8. **Budapest** (Ungarn)
Euroanalysis II — 2nd European
Conference on Analytical Chemistry
Auskunft: Hungarian Chemical
Society,
H-1368 Budapest, POB. 240

2.—12. 9. **Barcelona** (Spanien)
Congresso dell'Unione Internazionale
di Chimica Applicata
Auskunft: Dr. Andrés Perez Massia
Consejo Superior de Investigaciones
Científicas, Serrano 117, Madrid 6

8.—12. 9. **Wien** (Österreich)
Internationaler Kongreß über
Rhythmische Funktionen in
biologischen Systemen

Auskunft: Doz. Dr. G. Lassmann
Wiener Medizinische Akademie,
A-1090 Wien, Alser Straße 4

von einem BMT-Ingenieur bewältigt werden können.

5. Ganz generell sollte die Öffentlichkeit, insbesondere die öffentliche Verwaltung mehr zur Kenntnis nehmen, daß es den Biomedizinischen Ingenieur gibt, daß seine vielfältige, qualifizierte Ausbildung ihn zur Übernahme vieler verschiedenartiger Aufgaben befähigt und ihn damit in die Lage versetzt, Tätigkeiten, von hoher Verantwortung und hohem gesellschaftlichem Wert zu übernehmen.

Zusammenfassend können wir feststellen:

Es gibt für die interdisziplinäre Forschung, in Sonderheit für die Forschung auf dem Gebiet der Biomedizinischen Technik eine spezifische von der interdisziplinären Forschung differente Problematik. Die wesentlichen Schwierigkeiten liegen im

Bereich der wissenschaftlichen Kooperation, der interindividuellen Kommunikation. Ein neuer Typ des Forschers, eine neue allgemeinere Betrachtung seiner Aufgaben, Möglichkeiten und Grenzen wird notwendig.

Die Öffentlichkeit aber muß erkennen, daß es in ihrem Interesse liegt, die neuen Formen, Themen und Perspektiven der Forschung zu fördern.

340

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Dr. H. Keller
Institut für klinische Chemie und
Haematologie
des Kantons St. Gallen
Frohbergstraße 3
CH-9000 St. Gallen

Biomed. Techn.
21 (1976), S. 135—137

J. G. Schindler
W. Riemann
W. Schäl

Kaliumselektive Scheiben-Elektrode mit Valinomycin für Durchflußmessungen

Potassium- Selective Disc Electrode with Valinomycin for Flow- Through Measurements

Der Sensor der beschriebenen kaliumselektiven Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen besteht aus einer PVC-Matrix mit der aktiven Phase Valinomycin in Diphenyläther als ionenselektivem Kunststoff, der einerseits mit der Stirnfläche eines Pt-Drahtes mit geringem Driftpotential und andererseits mit der Meßflüssigkeit Kontakt hat.

The sensor of the described potassium-selective disc electrode for flow-through measurements consists of a PVC-matrix with an active phase of valinomycin in diphenyl ether as the ion-selective plastic, one side of which is in contact with the solution to be measured and on the other with the front surface of a platinum wire. This arrangement results in a very low drift potential.

Scheiben-Elektroden [6] sind elektrochemische Halbzellen, bei denen ein ionenselektiver Kunststoff einerseits mit der Stirnfläche eines Pt-Drahtes mit geringem Driftpotential und andererseits mit der Meßflüssigkeit Kontakt hat, so daß sich an der Phasengrenze zwischen ionenselektivem Kunststoff und wäßriger Elektrolytlösung eine Potentialdifferenz ausbilden kann. Ionenselektiver Sensor (Bild 1) und Bezugselektrode mit stabiler Gleichgewichtsgalvanispannung komplettieren sich zur Meßkette. Das von *Streptomyces fulvissimus* produzierte hochtoxische Antibiotikum Valinomycin mit in vitro Aktivität gegen *Mycobacterium tuberculosis* [8] gehört chemisch zur Klasse der Makrocyclen und besitzt neben seiner Bedeutung zur Erforschung von Transportphänomenen an biologischen Membranen [2, 5] Interesse zur Herstellung kaliumselektiver Elektroden [1, 2, 3]. Drei wiederkehrende

Einheiten mit abwechselnden Peptid- und Esterbindungen von Amino- (D- und L-Valin) und Hydroxysäuren (D-2-Hydroxyisovaleriansäure, L-Milchsäure) fügen sich zum zyklischen Depsipeptid Valinomycin:



Es wechseln D- und L-Konfigurationen paarweise ab, wobei die Valine auch wiederum je zur Hälfte D- und L-Konfigurationen an gehören [2, 5]. Nach Abstreifen seiner Hydrathülle schlüpft das Kaliumion in den von sechs Sauerstoffatomen umgebenen Hohlraum des Valinomycins (Bild 2).

Die flüssige 15 %ige PVC-Matrix in Cyclohexanon mit der aktiven Phase einer 9×10^{-3} M Lösung von Valinomycin in Diphenyläther (9:1) wird im gleichen Mischungsverhältnis mit dem valinomycinhal-

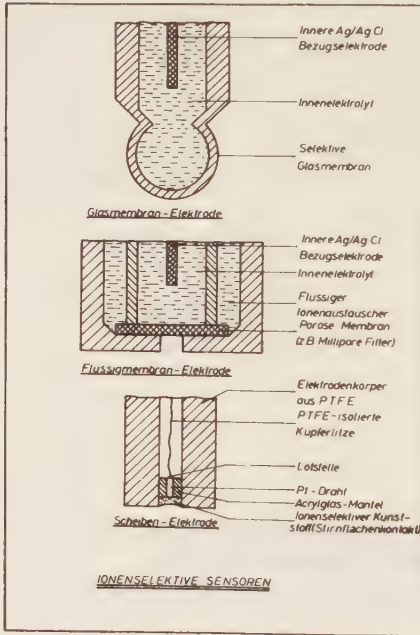


Bild 1. Ionen-selektive Sensoren

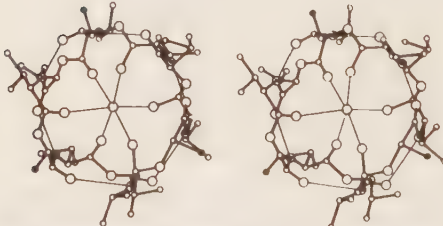


Bild 2 (aus Lit. 2). Stereoaufnahmen eines Modells des Kalium-Valinomycin-Komplexes mit den sechs das zentrale Metallion umgebenden Sauerstoffatomen. N = Stickstoffatome, M = Methylgruppen der Milchsäurereste; einfache Linien = Wasserstoffbrückenbindung [2]

tigen Ionenaustauscher Orion Nr. 92-19-02 nachbehandelt. Zweimalige Beschichtung des Sensors einer Scheiben-Elektrode mit diesem ionenselektiven Kunststoff und anschließender Lufttrocknung läßt ihn kaliumselektiv reagieren. Die Ag/AgCl Bezugselektrode besitzt als Referenceelektrolyten eine 3 M KCl-Lösung.

Die ionenselektive Einstabmeßkette wird mit nachgeschalteter Holter-Rollerpumpe Modell 904 betrieben, wobei das Meßgut mit einer Durchfluß-

geschwindigkeit von circa 50 µl/min zuerst den selektiven Sensor passiert.

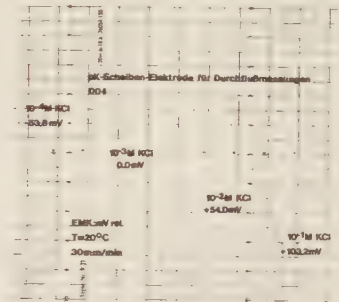


Bild 3. Ausschnitt aus einer Eichkurve mit reinen KCl-Lösungen

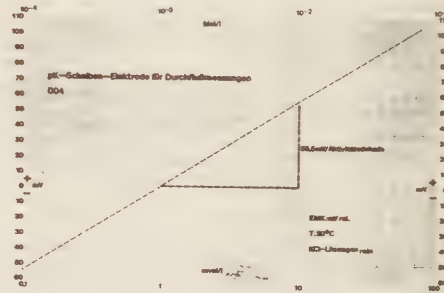


Bild 4. Aktivitätskurve mit reinen KCl-Lösungen

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für einwertige Ionen beträgt bei 20 °C 58,165 mV/Aktivitätsdekade. Die hier untersuchte pK-Scheiben-Elektrode weist eine Potentialänderung von 55,5 mV/Aktivitätsdekade in reinen KCl-Lösungen auf (Bilder 3, 4). Bild 4 berücksichtigt das nicht ideale Verhalten der verwandten Lösungen, da der Aktivitätskoeffizient nur bei Ionenstärken unter 10⁻³ Mol/l etwa gleich 1 gesetzt werden darf. Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität wurden näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel [4] berechnet. Die Elektrode wurde zu Messungen in 10⁻¹ bis 10⁻⁷ M KCl-Lösungen eingesetzt und zeigte im Bereich von 10⁻¹ bis 10⁻⁵ Mol KCl/l nach Delogarithmierung lineares Verhalten. In reinen KCl-Lösungen war bei Aktivitätsänderungen von einer Dekade eine Meßgenauigkeit von ± 0,3 mV und besser sowie eine Anzeigegeschwindigkeit von weniger als 20 sec/7 Aktivitätsdekaden zu erzielen (Bild 5).

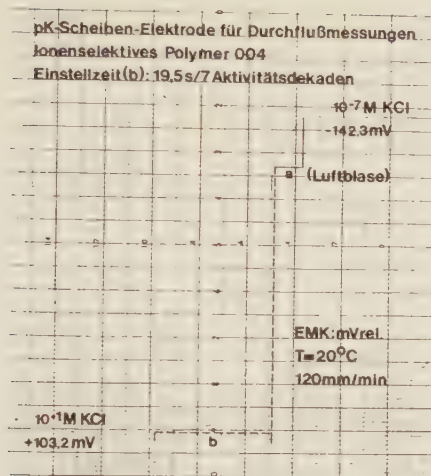


Bild 5. Anzeigegeschwindigkeit in reinen KCl-Lösungen

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt (Bild 6). Wäßrigen Lösungen von 10^{-3} und 10^{-4} Mol KCl/l wurden Störionenkonzentrationen von 150 mmol/l als Chlorid zugesetzt. Die Querempfindlichkeit gegenüber H^+ -Ionen wurde nach gleichem Prinzip durch fortlaufende pH-Messung mit Glaselektroden jedoch nur bis zu einer Störionenaktivität von pH 2,34 ermittelt. Folgende Selektivitätsverhältnisse K_{M-S} (M = Meßion, S = Störion) wurden bestimmt:

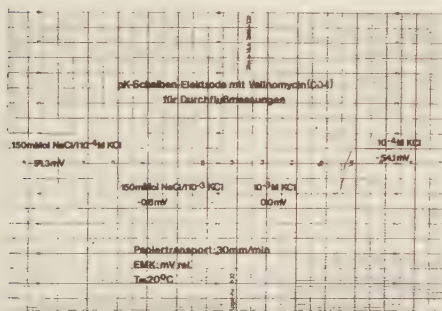


Bild 6. Selektivitätsbestimmung K_{K-Na}

K_{K-H}	$= 2,3 \times 10^{-3}$
K_{K-Na}	$= 1,5 \times 10^{-4}$
K_{K-NH_4}	$= 1,28 \times 10^{-2}$
K_{K-Ca}	$= 8,0 \times 10^{-5}$
K_{K-Mg}	$= 9,8 \times 10^{-5}$

Die kaliumselektive Scheiben-Elektrode wird trocken aufbewahrt und ist unproblematisch zu handhaben. Vor Inbetriebnahme wird sie mit 10^{-1} M KCl-Lösung bis zur stabilen Meßwertanzeige vorperfundiert. Die Eichlösungen sind den Meßlösungen in ihrer ionalen Zusammensetzung und Ionenstärke anzugleichen.

Die Potentialmessungen wurden mit dem Digital-Elektrometer DE 751 Fresenius Apparatebau Bad Homburg durchgeführt.

Die Autoren danken den Laboranten Margarete Schmied und H. Wege sowie den Technikern H. E. Braun (Dr. E. Fresenius KG, Forschungsstelle Marburg/Lahn), K. H. Lottes und W. Orthwein für ihre Mitarbeit.

Literatur

- [1] Cammann, K.: Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1973.
- [2] Franklin, T. J., G. A. Snow: Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe. Übersetzt und bearbeitet von Goebel, W. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1973.
- [3] Frant, M. S., J. W. Ross: Potassium Ion Specific Elektrode with High Selectivity for Potassium over Sodium. Science, 167 (1970), 987.
- [4] Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. J. Am. Chem. Soc., 59 (1937), 1675.
- [5] Mueller, P., D. O. Rudin: Development of K^+-Na^+ Discrimination in Experimental Bimolecular Lipid Membranes by Macrocyclic Antibiotics. Biochem. Biophys. Res. Commun., 26 (1967), 398.
- [6] Schindler, J. G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Technik, 2/20 (1975), 75.
- [7] Schindler, J. G., W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. Biomed. Technik, 2/20 (1975), 76.
- [8] Waley, S. G.: Naturally Occurring Peptides. Advances in Protein Chemistry, ed. by C. B. Anfinsen, M. L. Anson, J. T. Edsall, F. M. Richards. Academic Press, New York and London, 21 (1966), 1.

328

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler und
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge, 3550 Marburg/Lahn
Dr. W. Schäl
Dr. E. Fresenius KG
Forschungsstelle Marburg/Lahn
Schlosserstraße 12
D-3550 Marburg/Lahn

Über den Einfluß von Weichmachern auf die Charakteristika der Kalium-Valinomycin-Diskelektrode

J.G. Schindler,

Institut für Angewandte Physiologie, Universität Marburg

G. Stork und H.-J. Strüh,

Fachbereich Chemie, Universität Marburg

Ionenselektive Elektroden; Kalium-Valinomycin-Diskelektrode;
PVC-Membranmatrix; Weichmachereinfluß

Zusammenfassung: Der Einfluß von sechs verschiedenen Weichmachern in der PVC-Matrix auf die Charakteristika der Kalium-Valinomycin-Diskelektrode wird untersucht. Die Weichmacher, die selbst eine gewisse Kalium-Selektivität nach Konditionierung in einer KCl-Lösung zeigen, verändern die Selektivitätsverhältnisse, Potentialkonstanz, Potentialreproduzierbarkeit und andere Parameter in auffälliger Weise. Es wird darauf hingewiesen, daß eine Elektrodenoptimierung anwendungsbezogen erfolgen sollte.

Einleitung

Über den Einfluß von Weichmachern und Lösungsmitteln auf die Charakteristika von ionenselektiven Elektroden mit den häufig verwendeten Polymer-Matrices Polystyrol, Polyurethan, Polymethylmetacrylat und Polyvinylchlorid ist in der Literatur wiederholt berichtet worden (2,3). Die Membranen können nach verschiedenen Methoden hergestellt werden (1,9). Wir verwendeten für unsere Untersuchungen die Diskelektrode nach Schindler und Riemann (13), und zwar mit dem Antibiotikum Valinomycin, das sich durch eine ausgeprägte Kalium-Selektivität auszeichnet, als ionenselektiver Grundsubstanz ("Carrier"). Seit der Publikation der Konstruktion einer Flüssigmembranelektrode aus in Diphenylether gelöstem Valinomycin (12) sind viele anwendungsorientierte Arbeiten mit dieser Kaliumelektrode erschienen (6). Daneben wurden auch einige Beiträge zur Optimierung dieser Elektrode veröffentlicht, in denen hauptsächlich versucht wurde, durch Zusatz geeigneter Lösungsmittel bzw. Weichmacher die Selektivitäten zu erhöhen (10,11). Bei einer umfassenden Optimierung einer ionenselektiven Elektrode sollten folgende charakteristische Eigenschaften wenn möglich in Betracht gezogen werden:

1. Selektivitätsverhältnisse
2. Erfassungsgrenze
3. Steigung der Eichkurve
4. Potentialkonstanz
5. Potentialreproduzierbarkeit
6. Einstellzeiten
7. Dauer der notwendigen Konditionierung
8. Dauer der Gebrauchsfähigkeit
 - a) bei ununterbrochener Messung in reiner Meßlösung
 - b) bei ununterbrochener Messung in Lösungen mit hohen Störionenkonzentrationen
 - c) bei trockener Aufbewahrung
9. Reproduzierbarkeit der Elektrodenherstellung

In der Regel wird nach einem Kompromiß gesucht werden müssen. Deshalb sollte der Einsatzbereich der Elektrode in der Praxis und damit die notwendige Erfassungsgrenze, die maximal vorkommenden Störionenkonzentrationen und die sich daraus

ergebenden erforderlichen Selektivitätskonstanten bedacht werden. Erst die Kenntnis dieser Bedingungen ermöglicht eine echte Optimierung, die nicht in einseitiger Weise bestimmte, für den Anwender vielleicht schon längst ausreichende Eigenschaften weiter verbessert und dafür wichtige technische Qualitäten weniger beachtet.

Die folgende Studie soll anhand einiger ausgewählter Weichmacher zeigen, wie die Charakteristika einer für die Klinische Analyse konzipierten Kalium- Valinomycin-Diskelektrode von der Membranismatrix abhängen.

Experimentelles

Diskelektrode nach Schindler und Riemann. Die ionenselektiven Diskelektroden nach (13) sind, ähnlich wie die Coated-Wire-Elektroden (1,4), nach dem Prinzip der inneren Festableitung aufgebaut. Abb. 1 zeigt eine Diskelektrode, wobei eine scheibenförmige PVC-Membran von 2 mm Durchmesser in einer Dicke von 0,5 mm die Stirnfläche eines Pt-Stiftes kontaktiert, der in den Elektrodenkörper aus Teflon eingebettet ist. Die PVC-Membran wird hergestellt, indem ein Tropfen einer 15%igen PVC-Lösung in (meist) Cyclohexanon, die außerdem die ionenselektive Grundsubstanz und eventuell Weichmacherzusätze enthält, in die Vertiefung des Elektrodenkopfes gegeben wird. Nach Verdunsten des Lösungsmittels muß der Vorgang je nach Art des Lösungsmittels und der ionenselektiven Grundsubstanz zwei- bis fünfmal wiederholt werden. Eine besonders gute Haftung der PVC-Membran am Pt-Stift wird durch eine vorherige Ummantelung des Platins mit Acrylglas erreicht, das beim Beschichten angelöst wird und sich mit dem PVC verbindet. Dadurch wird eine leckpotential-sichere Inbetriebnahme möglich.

Die Dimensionen des Sensors sind so gehalten, daß dieser Elektrodentyp speziell für Durchflußmessungen mit kleinen Probenvolumina geeignet ist. Dabei ist es möglich, im Baukastensystem mehrere Elektroden in Serie zu montieren. Ein solches, ebenfalls in Abb. 1 dargestelltes Multimeßsystem kann für 1, 3, 5, usw. Elektroden eingerichtet werden,

wobei die in Abb.1 wiedergegebene Version lediglich die Abmessungen von $49 \times 42 \times 20 \text{ mm}^3$ aufweist. Die Ag/AgCl-Referenzelektrode ist über einen PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe als Stromschlüssel-Kontaktzone mit der Meßlösung verbunden; ihre Ausflußrate beträgt nur $0,1 \text{ ml} / 24 \text{ h}$.

Der Transport der Lösungen durch das Multimeßsystem erfolgt über eine Rollenpumpe (Holter Pump, Extracorporeal Med. Spec. Inc., Modell 908). Die Potentialdifferenzen werden mit einem Digital-Elektrometer (Typ DE 751, Fresenius Apparatebau, Eingangswiderstand 10^{15} Ohm) gemessen, die Potential-Zeit-Kurven mit einem Servogor-Kompensationsschreiber (Metrawatt) registriert.

Die Durchflußrate liegt im Bereich von $20 - 50 \mu\text{l/min}$. Ihr Einfluß auf die Messungen ist durch den strömungsgünstigen Kontaktbereich zwischen der konkaven Scheibenmembran und der Meßlösung gering und muß nur bei Konzentrationen unter 10^{-4} M beachtet werden.

Die Elektroden sind als Stecker konzipiert, deshalb leicht zu handhaben, schnell einsatzbereit und leicht austauschbar. Sie sind robust, können trocken aufbewahrt werden und müssen vor ihrem Einsatz nur in 10^{-1} M Meßlösung konditioniert werden. Neben der durch die Anordnung als Multimeßsystem erreichten Zeit- und Materialersparnis sind außerdem die Elektroden selbst relativ billig, weil vor allem bei teuren ionenselektiven Substanzen die im Vergleich zu anderen Membrantypen äußerst geringe Menge, die zur Herstellung der Membran benötigt wird, ins Gewicht fällt.

Kalium-Valinomycin-Diskelektrode. Zur Herstellung der Membran werden 3-mal je 1 Tropfen einer Lösung 3 mg Valinomycin und $0,1 \text{ ml}$ Weichmacher in $0,3 \text{ ml}$ 15% iger PVC-Lösung in die Vertiefung des Elektrodenkopfes (Abb. 1) gegeben.

Die in Tabelle 1 aufgeführten 8 Elektroden wurden im Hinblick auf die eingangs zusammengestellten Kriterien hin untersucht.

Ergebnisse und Diskussion

Mit den Elektroden G und H, bei denen kein Weichmacher zugesetzt wurde, werden Eichkurven mit Steigungen von maximal 30 mV/Dekade erhalten (Abb. 2b). Daraus folgt, daß der Zusatz eines Weichmachers unbedingt notwendig ist.

auf dieses Faktum wurde schon von (7) hingewiesen, die bei einem anderen Elektrodentyp mit Tetrahydrofuran als Lösungsmittel und ohne Weichmacherzusatz nur eine Steigung von 20 mV/Dekade erreichten. Außerdem traten bei unseren Messungen mit den Elektroden G und H starke Potentialdriften auf, obwohl sie vorher in 10^{-1} M HCl-Lösung bis zur Potentialkonstanz konditioniert wurden. Die Eichkurven der anderen Elektroden A bis F entsprechen dagegen mit einer Steigung von 58 mV/Dekade den Erwartungen (Abb. 2a u. 2b).

Hinsichtlich der Erfassungsgrenzen, die für den angestrebten klinisch-medizinischen Zweck völlig ausreichen, treten bei den eingesetzten Weichmachern keine gravierenden Unterschiede auf.

Das Selektivitätsverhalten der Elektroden A - F ist aus Abb. 3 zu ersehen. Die Selektivitätskonstanten wurden unter Berücksichtigung der Kiellandschen Aktivitätskoeffizienten (5) berechnet. Als Störionen fanden nur die bei Messungen in physiologischem Milieu wichtigen Ionen (Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} und K^+) Berücksichtigung. Bei Blutserum-Bestimmungen muß mit folgenden Konzentrationen dieser Störionen gerechnet werden: K^+ : 3,20-5,50 mmol/l; Na^+ : 126,1-150,9 mmol/l; Ca^{++} : 1,02-1,45 mmol/l; Mg^{++} : 0,66-1,48 mmol/l; NH_4^+ : 5,9-70,5 $\mu\text{mol/l}$; pH: 7,35-7,45.

Aus den Selektivitätskonstanten (Abb. 3) kann man leicht abschätzen, daß mit Ausnahme von Elektrode D, bei der Na^+ -Ionen stören könnten, alle Elektroden ausreichend selektiv sind. Abgesehen von der unzureichenden Selektivität gegenüber Na^+ -Ionen, zeichnet sich aber gerade Elektrode D durch hohe Potentialkonstanz und -reproduzierbarkeit sowie durch kurze Einstellzeiten aus. Elektrode A mit Diphenylether, einem Lösungsmittel der Valinomycin-Flüssigmembranelektrode, ist nur wenige Tage funktionsfähig, da die Lebensdauer durch Diffusion des Ethers aus der Membran drastisch reduziert wird. Außerdem ist Elektrode A mit Einstellzeiten von etwa 1 min. beim Wechsel zwischen 10^{-3} und 10^{-4} M Lösungen bzw. von über 2 min. beim Übergang von bidest. Wasser zu 10^{-1} M K^+ -Lösung den anderen Elektroden um den Faktor 3 - 5 unterlegen. Diphenylether ist deshalb als alleiniger Zusatz für PVC-Membranen ungeeignet, wie auch schon an anderer Stelle (7)

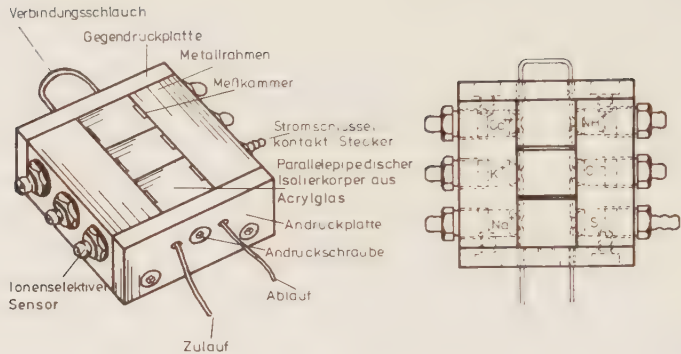
festgestellt wurde.

Die Elektroden mit Phthalsäureestern (B und C) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, was aufgrund der Ähnlichkeit der beiden Substanzen auch erwartet wurde. Sie erfüllen einen Teil der Funktionskriterien zufriedenstellend. So fallen die kurzen Konditionierungszeiten, die die Elektroden B und C praktisch sofort einsatzfähig machen, und die kurzen Einstellzeiten besonders auf. Nachteilig dagegen sind die Potentialschwankungen bei niedrigen Konzentrationen. Auch die Elektroden E und F sind besonders wegen ihrer kurzen Einstellzeiten hervorzuheben. Im Vergleich mit den Elektroden B und C weisen sie eine größere Potentialstabilität auf.

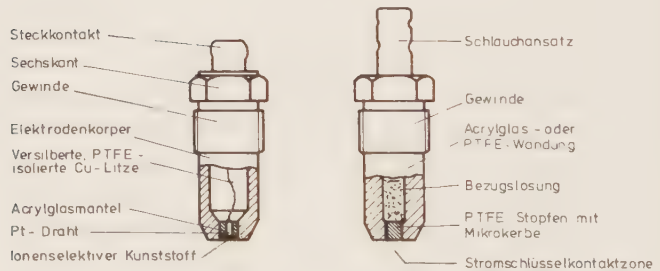
Bei Versuchen, das Problem der Membranmatrix auf dem Wege der Untersuchung von PVC-Membranen, die kein Valinomycin, sondern nur Weichmacher enthalten, zu erfassen, muß der Membrantyp sehr stark berücksichtigt werden. So stellten wir bei Untersuchungen von PVC-Membranen nach Moody (9) fest, daß eine Kontrollmembran, die nur Dioctylphthalat enthält, sich gegenüber Konzentrationsänderungen praktisch inert verhält. Wird Dioctylphthalat dagegen in eine Diskmembran inkorporiert, so können sowohl Eichkurven aufgestellt als auch Selektivitätskonstanten berechnet werden. Dieses Phänomen hängt wohl mit der Konsistenz der Matrix zusammen. Sowohl PVC-Membranen nach Moody (9) als auch Coated-Wire-Elektroden (1,4) müssen naturgemäß von viel größerer Festigkeit sein, als die Membranen der Diskelektroden, die in der Vertiefung des Elektrodenkopfes mechanisch nahezu nicht beansprucht werden. Offensichtlich ist deshalb durch die besonderen Diffusionsverhältnisse dieser Membran die Möglichkeit gegeben, Messungen an Elektrodenmembranen vorzunehmen, die in anderen Elektrodentypen als Isolatoren oder Inertschichten zu wirken scheinen. Bei der Untersuchung der "Weichmacher-Elektroden" (ohne Valinomycin) stellte sich heraus, daß alle 6 verwendeten Substanzen nach Konditionierung in 10^{-1} M KCl-Lösung eine gewisse Kaliumselektivität aufweisen (Tab. 2). Dennoch sind selbst diejenigen "Weichmacher-Elektroden", die von ihren Eichkurven her als brauchbare K-Elektroden erscheinen, für die Praxis nicht geeignet, da sich ihre Eigenschaften unter dem Einfluß

hoher Störionenkonzentrationen schon nach kurzer Zeit verändern können.

wir danken der Firma Fresenius Apparatebau KG, Bad Homburg v.d.H., und dem Fonds der Chemischen Industrie für die Unterstützung der Arbeiten.



Ionenselektives Multimeßsystem



Ionenselektive Disk-Elektrode

Stromschlüsselkontakt-Stecker

Abb. 1: Multimeßsystem mit ionenselektiven Diskelektroden

EMK: mV rel.

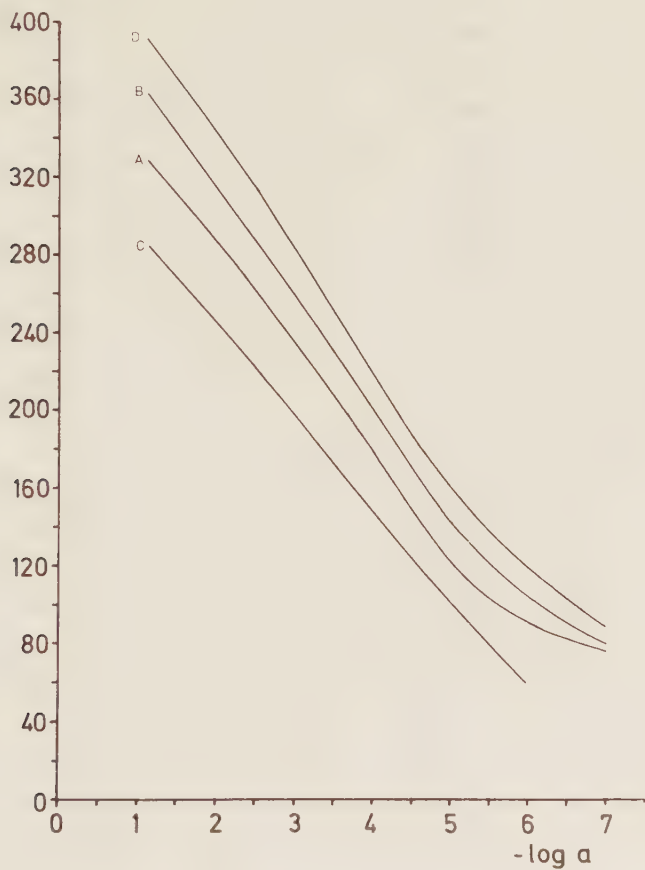


Abb. 2a: Eichkurven von K^+ -Valinomycin-Diskelektroden mit verschiedenen Weichmachern (A-D, Tab. 1)

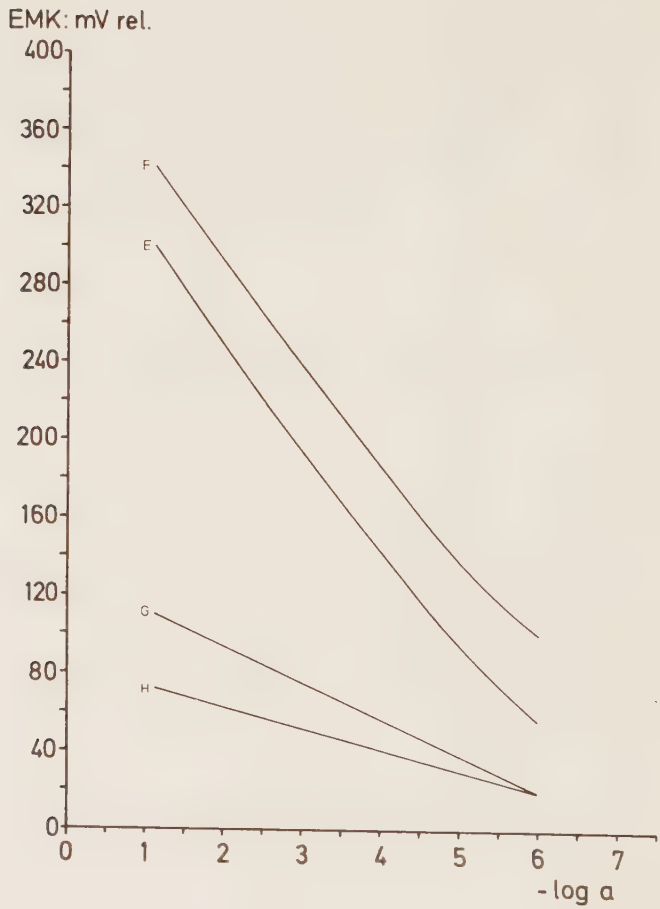


Abb. 2b: Eichkurven von K^+ -Valinomycin-Diskelektroden mit verschiedenen Weichmachern (E-H, Tab. 1)

$-\log K_{K-S}$

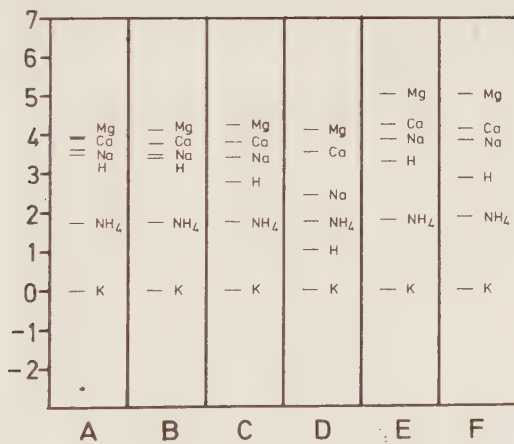


Abb. 3: Selektivitätskonstanten der pK-Diskelektroden aus Tab. 1

Tabelle 1: Zusammenstellung der untersuchten Kalium-Valinomycin-Diskelektroden mit PVC-Matrix

Elektrode	Lösungsmittel	Weichmacher
A	Cyclohexanon	Diphenylether
B	Cyclohexanon	Diethylphthalat
C	Cyclohexanon	Dinonylphthalat
D	Cyclohexanon	Tris(2-ethylhexyl)-phosphat
E	Cyclohexanon	Bis(2-ethylhexyl)-sebacat
F	Cyclohexanon	Bis(2-ethylhexyl)-adipat
G	Cyclohexanon	-----
H	Cyclohexanon/ Tetrahydrofu- ran (3:1)	-----

Tabelle 2: Zusammenstellung der Selektivitätssequenzen von untersuchten "Weichmacher"-Disk Elektroden (ohne Valinomycin) mit in Cyclohexanon gelöstem PVC nach Konditionierung in 10^{-1} m KCl

Elektrode	Weichmacher	Selektivitätssequenz
A'	Diphenylether	$K^+ > NH_4^+ > H^+ > Na^+ > Ca^{++} > Mg^{++}$
B'	Dioctylphthalat	$K^+ > H^+ > NH_4^+ > Na^+ > Ca^{++} > Mg^{++}$
C'	Dinonylphthalat	$K^+ > NH_4^+ > H^+ > Ca^{++} > Mg^{++} > Na^+$
D'	Tris(2-ethylhexyl)-phosphat	$H^+ > K^+ > NH_4^+ > Na^+ > Ca^{++} > Mg^{++}$
E'	Bis(2-ethylhexyl)-sebacat	$H^+ > K^+ > NH_4^+ > Na^+ > Ca^{++} > Mg^{++}$
F'	Bis(2-ethylhexyl)-adipat	$K^+ > H^+ > NH_4^+ > Na^+ > Ca^{++} > Mg^{++}$

Literaturverzeichnis

1. Cattrall, R.W., Freiser, H.: Anal. Chem. 45, 1905 (1971).
2. Fiedler, U.: Anal. Chim. Acta 89, 101 u. 111 (1977).
3. Jaber, A.M.Y., Moody, G.J., Thomas, J.D.R.: Analyst 101, 179 (1976).
4. James, H., Carmack, G., Freiser, H.: Anal. Chem. 44, 856 (1972).
5. Kielland, J.: J. Am. Chem. Soc. 59, 1675 (1937).
6. Koryta, J.: Anal. Chim. Acta. 91, 1 (1977).
7. Pascini, M., Falozzi, F.: Anal. Chim. Acta. 73, 375 (1974).
8. Meier, F.G., Ammann, D., Osswald, H.F., Simon, W.: Med. Progr. Techn. 5, 1 (1977).
9. Moody, G.J., Oke, R.E., Thomas, J.D.R.: Analyst 95, 910 (1970).
10. Nicol'skii, B.P., Materova, E.A., Grekovich, A.I., Yurinskaya, V.E.: Zh. Anal. Khim. 29, 205 u. 175 (1974).
11. Oehme, H., Simon, W.: Anal. Chim. Acta 86, 21 (1976).
12. Pioda, L.A.R., Stankova, V., Simon, W.: Anal. Lett. 2, 665 (1969).
13. Schindler, J.G., Riemann, W.: Biomed. Techn. 20, 75 (1975).

Anschrift der Verlasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler
Institut für Angewandte Physiologie
Universität Marburg/Lahn

Prof. Dr. G. Stork
H.-J. Strüh

Fachbereich Chemie
Universität Marburg/Lahn

Optimierung einer Kalium-Valinomycin-Diskelektrode

J. G. Schindler

Institut für Angewandte Physiologie
Universität Marburg/Lahn

G. Stork und H.-J. Strüh

Fachbereich Chemie
Universität Marburg/Lahn

Ionenselektive Elektroden; Kalium-Valinomycin-Diskelektrode;
Optimierung

Zusammenfassung: Es wird über eine Optimierung einer Kalium-Valinomycin-Diskelektrode durch den kombinierten Zusatz verschiedener Weichmacher berichtet. Die Inkorporation dreier Weichmacher in die PVC-Membran führt zu einer Elektrode, die wesentliche Funktionskriterien für eine Anwendung in der klinischen Analytik erfüllt.

Einleitung

Bei ionenselektiven Flüssigmembranelektroden hat das verwendete Lösungsmittel, bei PVC-Membranelektroden ein der PVC-Matrix zugesetzter Weichmacher einen großen Einfluß auf verschiedene Elektrodencharakteristika wie Selektivität, Erfassungsgrenze, Potentialkonstanz, -reproduzierbarkeit und Einstellzeit. In unserer letzten Mitteilung (12) wurde über die Eignung verschiedener Weichmacher für eine Kalium-Valinomycin-Diskelektrode berichtet. Für eine auf diesen Untersuchungen aufbauende weitere Optimierung dieser Elektrode bieten sich vom Methodischen her drei Wege an:

1. Suche nach Weichmachern mit noch besseren Eigenschaften
2. Variation der Verhältnisse der Membrankomponenten
3. Kombination verschiedener Weichmacher

Im folgenden werden Untersuchungen an der Kalium-Valinomycin-Diskelektrode (12) nach der letztgenannten Möglichkeit beschrieben, die, soweit uns bekannt, lediglich bei (5,11) näherungsweise anklingt.

Durchführung und Ergebnisse

Objektive Kriterien, die es gestatten, die Eigenschaften einer Elektrode durch eine gezielte Auswahl von Weichmachern in die gewünschte Richtung hin zu verändern, existieren noch nicht. Deshalb mußte auf die in (12) ermittelten empirischen Erkenntnisse zurückgegriffen werden. So zeichnete sich Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat durch seine positive Wirkung auf Einstellzeiten und Potentialkonstanz aus, während die Selektivitäten verschlechtert wurden. Es bestand nun die Möglichkeit, daß durch Zugabe von Weichmachern, die die Selektivität verbessern, gleichsam in einem positiven synergistischen Effekt die kombinierten Elektroden die Vorteile der verschiedenen Einzelkomponenten-Membranen in sich vereinigen. Einige Elektroden aus der aufgrund der Kombinationsmöglichkeiten denkbaren Anzahl, bei denen der erhoffte Effekt deutlich eintrat, sind in Tab. 1 aufgeführt.

Bei Elektrode J wurden die Nachteile des Diphenylethers (kurze Lebensdauer, schlechte Einstellzeiten) durch Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat aufgehoben. Umgekehrt wurde der nachteilige

Einfluß des Phosphorsäureesters auf die Selektivitäten durch den Diphenylether kompensiert (Abb.1). Die Elektrode J zeichnet sich darüber hinaus durch besondere pH-Unabhängigkeit aus; so beträgt die Potentialdifferenz zwischen 10^{-3} und 10^{-4} M K^+ -Lösungen selbst bei pH 1 noch 52 mV.

Die ungenügende Potentialkonstanz bei Phthalsäureester-Zusätzen wird ebenfalls durch den Phosphorsäureester ausgeglichen (Elektroden K und L), genau wie umgekehrt die Selektivitäten wieder verbessert werden (Abb.1). Bei Elektrode K sind zusätzlich die sehr kurzen Einstellzeiten hervorzuheben.

In Abb. 1 sind die Selektivitätskonstanten (k_{MS} -Werte) der Einkomponenten-Elektroden den kombinierten Elektroden J, K und L vergleichend gegenübergestellt.

Von den 3-Komponenten-Elektroden erfüllt die Elektrode M alle Funktionskriterien für eine Anwendung in der klinischen Analytik so hinreichend, daß mit ihr eine Optimierung als erfolgreich abgeschlossen angesehen werden kann. Abb. 2 zeigt die Selektivitätskonstanten dieser Elektrode im Vergleich mit den Werten bisher publizierter Valinomycin-Elektroden. In bezug auf die Selektivität ist die Elektrode M den anderen mindestens gleichwertig. Sie erfüllt überdies ein auch für eine eventuelle Serienfertigung wichtiges Kriterium: Die Reproduzierbarkeit der Herstellung. Dies demonstriert Abb. 3, in der die Eichkurven von 10 Elektroden des Typs M ohne Selektion oder vorherige Überprüfung ihrer Funktionsfähigkeit aufgezeichnet sind. Abb. 4 untermauert die Reproduzierbarkeit der Herstellung durch die Wiedergabe der Selektivitätskonstanten dieser 10 Elektroden. Die Tatsache, daß jede Elektrode von ihrer Selektivität und Erfassungsgrenze her schon nach einer Konditionierung von wenigen Minuten voll einsatzfähig ist, ist von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit. Die Qualität der Elektroden bezüglich Potentialkonstanz, -reproduzierbarkeit und Einstellzeit zeigt die in Abb. 5 wiedergegebene mit einem Schreiber registrierte Potential-Zeit-Kurve. Die zufriedenstellende Gebrauchsdauer muß ebenfalls hervorgehoben werden: Die Elektroden waren während drei Monaten unter unterschiedlichen Bedingungen, zum Teil ununterbrochen, in Gebrauch und werden zur Zeit immer noch benutzt.

Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie und der Firma Fresenius Apparatebau KG, Bad Homburg v.d.h., für die Unterstützung dieser Arbeit.

Tab. 1: Zusammenstellung der beschriebenen Kalium-Valinomycin-Diskelektroden mit kombinierten Weichmacherzusätzen

Elektrode	Weichmacher	Verhältnis
J	Diphenylether/ Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	2 : 1
K	Dioctylphthalat/ Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	2 : 1
L	Dinonylphthalat/ Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	2 : 1
M	Diphenylether/ Dinonylphthalat/ Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat	1,5 : 2 : 1

$-\log K_{K-S}$

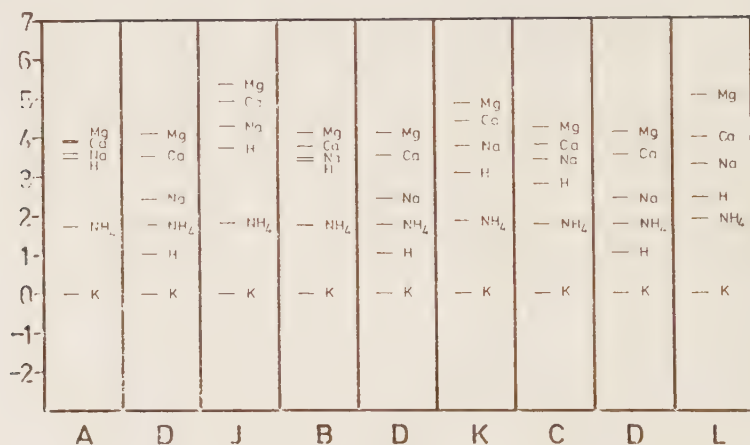


Abb. 1: Vergleich der K_{K-S} -Werte von Valinomycin-Elektroden mit einem (A-D) und zwei Weichmachern (J-L).

A = Biphenylether; B = Dioctylphthalat; C = Dinonylphthalat; D = Tris-(2-ethylhexyl)-phosphat

log K_{K-S}

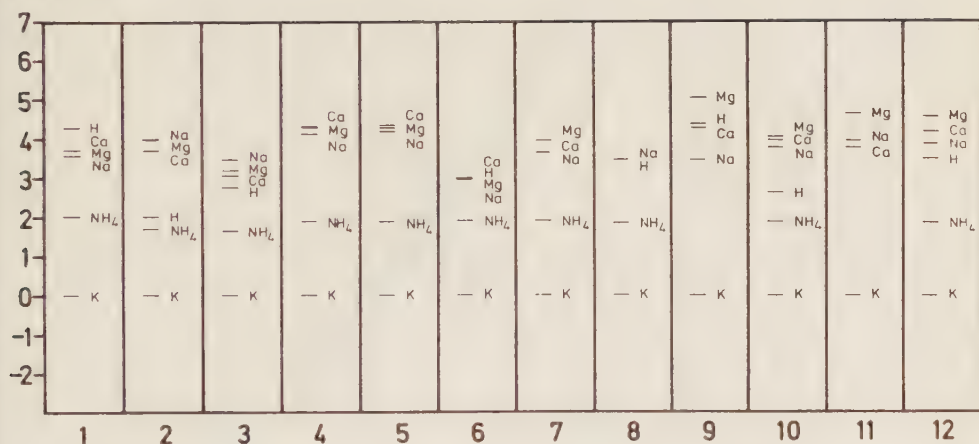


Abb. 2: Vergleich der Selektivitätskonstanten der optimierten Elektrode M (Nr. 12) mit Elektroden anderer Autoren: Nr. 1 (9), 2 (4), 3 (8), 4 (10), 5 (2), 6 (1), 7 (5), 8 (6), 9 (7), 10 (11), 11 (3)

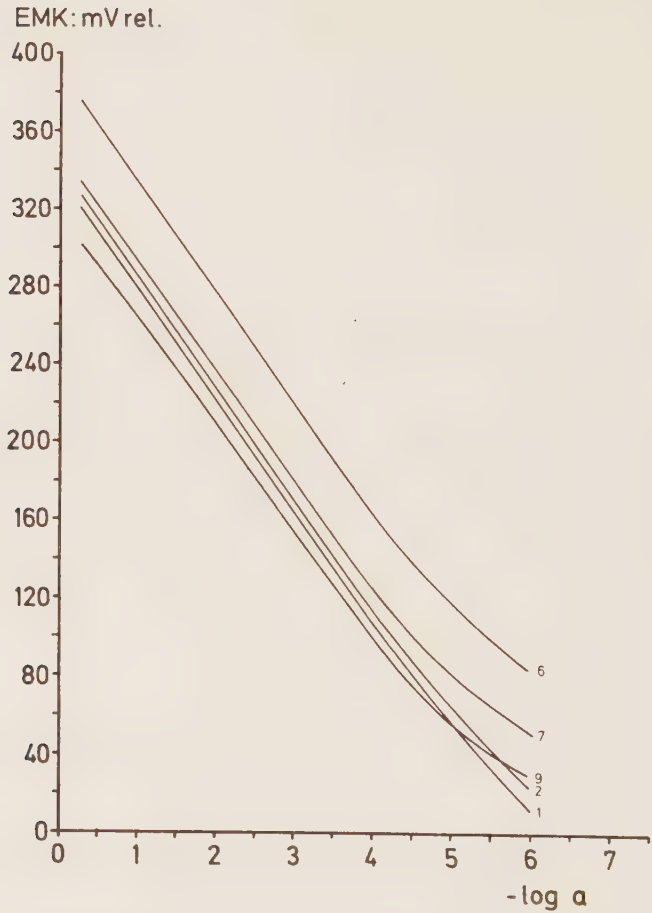


Abb. 3a: Reproduzierbarkeit der Eichkurven von Valinomycin-Diskelektroden des Typs M

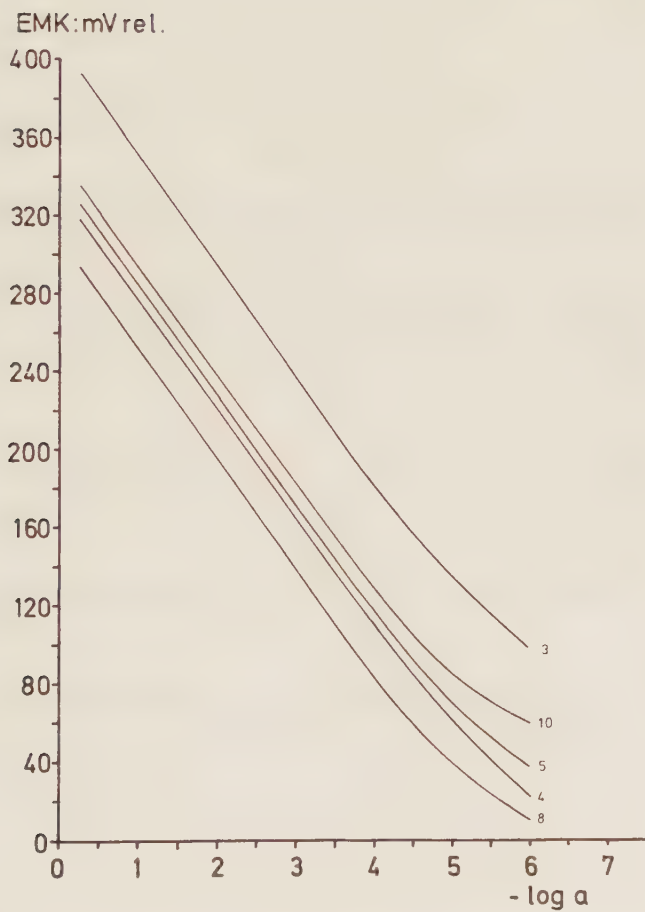


Abb. 3b: Reproduzierbarkeit der Eichkurven von Valinomycin-Diskelektroden des Typs M

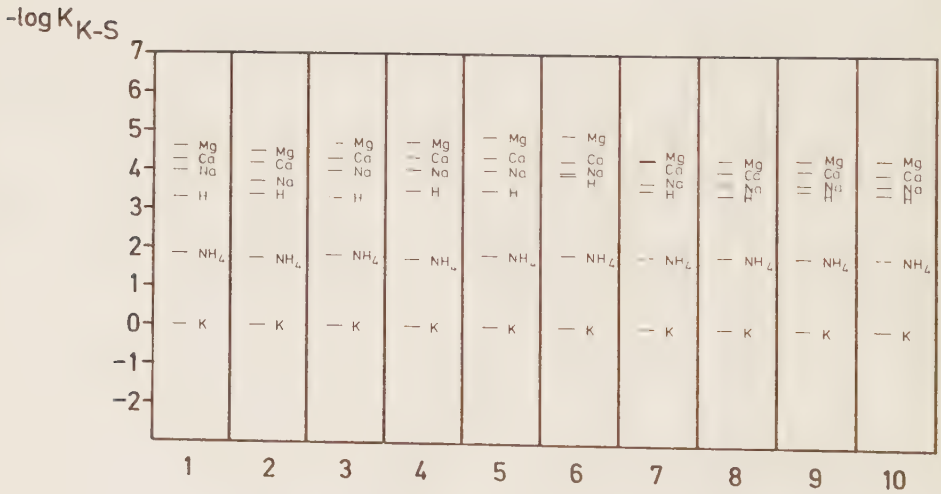


Abb. 4: Reproduzierbarkeit der K_{MS} -Werte von Valinomycin-Diskelektroden des Typs M

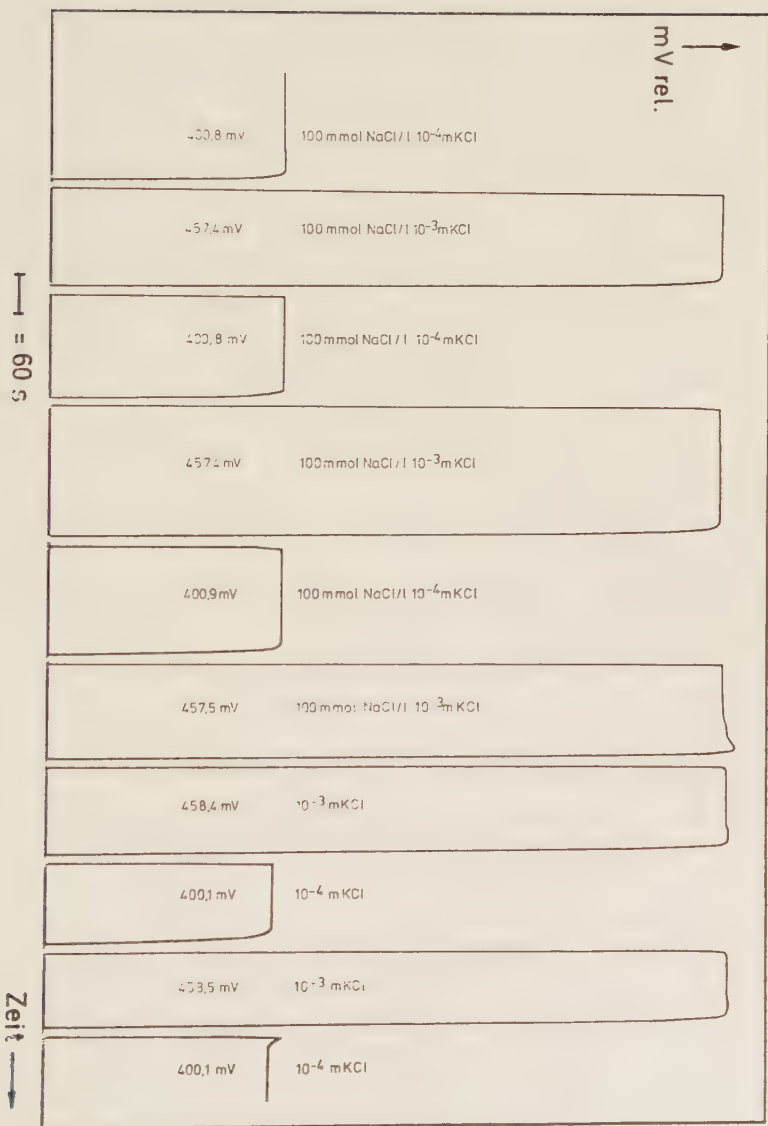


Abb. 5: Potentialkonstanz, -reproduzierbarkeit und Einstellzeit der Diskelektrode M ($T=20^{\circ}\text{C}$)

Literaturverzeichnis

1. Cattrall, R.W., Tribuzio, S., Freiser, H.:
Anal. Chem. 46, 2223 (1974).
2. Fiedler, U., Ružíčka, J.: Anal. Chim. Acta 67, 179 (1973).
3. Fiedler, U.: Anal. Chim. Acta 89, 111 (1977).
4. Frant, M.S., Ross, J.W.: Science 167, 987 (1970).
5. Pascini, M., Palozzi, F.: Anal. Chim. Acta 73, 375 (1974).
6. Nikol'skii, B.P., Materowa, E.A., Grekovich, A. L.,
Yurinskaya, V.E.: Zh. Anal. Khim. 29, 205 (1974).
7. Oehme, M., Simon, W.: Anal. Chim. Acta 86, 21 (1976).
8. Pick, J., Tóth, K., Pungor, E., Vasák, M., Simon, W.:
Anal. Chim. Acta 64, 477 (1973).
9. Fioda, L.A.R., Stankova, V., Simon, W.: Anal. Lett. 2,
665 (1969).
10. Ružíčka, J., Hansen, E.H., Tjell, J.Ch.: Anal. Chim. Acta
67, 155 (1973).
11. Schindler, J.G., Riemann, W., Schäl, W.: Biomed. Techn.
21, 135 (1976).
12. Schindler, J.G., Stork, G., Strüh, H.-J.: Z. Anal. Chem.
im Druck.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler,
Institut für Angewandte Physiologie,
Universität Marburg/Lahn

Prof. Dr. G. Stork,
H.-J. Strüh,
Fachbereich Chemie,
Universität Marburg/Lahn

zuletzt, um weltweit vergleichbare Meßbedingungen zu schaffen.

Unsere Gesellschaft hat die Verdienste Fritz Schwarzers um die Elektromedizinische Technik und um ihre eigenen Belange durch Verleihung der Ehrenmitgliedschaft im April 1970 gewürdigt. Damit wurde auch der Mensch F. Schwarzer geehrt, zu dessen Wesen Beharrlichkeit in der Verfolgung selbstgewählter Ziele, gesunder Menschenverstand, ausgeprägter Humor ebenso gehörten wie menschliche Wärme und Güte. Das Bild des Verstorbenen wäre unfertig, wenn es nicht auch die stark musische Veranlagung erkennen ließe, die ihm bei

Klavier- und Orgelspiel und bei Vertonung einiger Goethe-Gedichte noch im Alter Freude und Erbauung bereitete. Bekannt war F. Schwarzer als begeisteter Tennisspieler und als Natur- und Tierfreund. Für soziale Zwecke war er stets ein großzügiger Spender.

Die Deutsche Gesellschaft für Biomedizinische Technik verliert mit seinem Tod eine Persönlichkeit, die durch weltweit anerkannte originelle Lösungen dazu beigetragen hat, dieser Technik zum Durchbruch und steilen Aufstieg zu verhelfen und damit ihr Ansehen zu mehren.

Johannes Pätzold

Kurzberichte

Unter „Kurzberichte“ werden Arbeiten veröffentlicht, die in ihrem Umfang 3 DIN-A 4 Seiten (1/4-zellig beschrieben) einschließlich Literatur und Bildmaterial (nur Strichzeichnungen) nicht überschreiten. Eine Veröffentlichung derartiger Arbeiten wird innerhalb von 3 Monaten erfolgen.

Chloridselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen

Nach Lufttrocknung einer 15%igen PVC-Lösung mit Cyclohexanon als Matrix für das Dimethyldistearylammonium-Kation [2, 3]-Orion Nr. 92-17-02- als aktiver Phase besitzt der scheibenförmige ionenselektive Kunststoff auf der Stirnfläche eines Pt-Drahtes [4, 5, 6] chloridselektive Eigenschaften.

Bei konstant gehaltener Störionenaktivität wurden die Selektivitätsverhältnisse unter Veränderung der Meßionenaktivität bestimmt. Wäßrigen Lösungen von 10^{-1} und 10^{-2} Mol NaCl/l wurden Konzentrationen von 23 mMol/l der Störionen F^- , Br^- , J^- , HCO_3^- oder HPO_4^{2-} als Natrium-Salz zugesetzt. Die Querempfindlichkeit gegenüber OH^- Ionen wurde nach gleichem Prinzip fortlaufend mittels pH-Glas-membranelektroden bis zu einer Störionenaktivität von pH 11,33 ermittelt. Unter Berücksichtigung des nicht idealen Verhaltens der verwandten Lösungen — der Aktivitätskoeffizient kann nur bei Ionenstärken unter 10^{-3} Mol/l etwa gleich 1 gesetzt werden — wurden Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel [1] berechnet. Bezüglich der bestimmten Selektivitätsverhältnisse zeigt die pCl-Scheiben-Elektrode folgende Eigenschaften:

K_{Cl^-/OH^-}	= 2,2
K_{Cl^-/F^-}	= $4,6 \times 10^{-1}$
K_{Cl^-/Br^-}	= 2,3
K_{Cl^-/J^-}	= 10,5
K_{Cl^-/HCO_3^-}	= $5,4 \times 10^{-1}$
$K_{Cl^-/HPO_4^{2-}}$	= $6,5 \times 10^{-2}$

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für ein wertige Ionen beträgt bei 20 °C 58,165

mV/Aktivitätsdekade. Entsprechend dem negativen Vorzeichen für Anionen vor dem Nernst-Faktor in der Nernstschen Gleichung wird das Meßkettenpotential mit steigender Aktivität negativer. Die hier untersuchte chloridselektive Einstabmeßkette mit 3-molarer KCl-Lösung als Referenceelektrolyt der Ag/AgCl-Bezugselektrode zeigt eine Potentialänderung von 53,5 mV/Aktivitätsdekade in reinen NaCl-Lösungen. Die Elektrodensteigung war zwischen 10^{-1} und 10^{-3} Mol NaCl/l nach Delogarithmierung linear. Der Einsatzbereich erstreckte sich von 10^0 bis 10^{-5} Mol NaCl/l. Die Anzeigegeschwindigkeit in reinen NaCl-Lösungen verschiedener Meßketten variierte zwischen 90 und 180 s. Unter diesen Bedingungen ließ sich eine Meßgenauigkeit von $\pm 0,5$ mV und besser erzielen.

Der Sensor wurde mit einer Durchflußgeschwindigkeit von circa $40 \mu\text{l}/\text{min}$ angeströmt. Mittels nachgeschalteter Holter-Rollerpumpe Modell 904 passiert das Meßgut zuerst den selektiven Sensor.

Die chloridselektive Scheiben-Elektrode wird trocken aufbewahrt. Vor Inbetriebnahme wird sie mit 10^{-1} M NaCl-Lösung bis zur stabilen Meßwertanzeige vorperfundiert. Die Eichlösungen sind den Meßlösungen in ihrer ionalen Zusammensetzung und Ionenstärke anzugleichen.

Die EMK-Messungen wurden mit dem Digital-Elektrometer DE 751 Fresenius Apparatebau Bad Homburg durchgeführt. Die Autoren danken den Laboranten Margarete Schmied und H. Wege sowie dem Techniker H. E. Braun (Dr. E. Fresenius KG, Forschungsstelle Marburg/Lahn) für ihre Mitarbeit.

Literatur

- [1] Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. J. Am. Chem. Soc. 59, (1937), 1675.
- [2] Moody, G. J., J. D. R. Thomas: Selective Ion Sensitive Electrodes, Watford: Merrow Publishing Co Ltd. England (1971).
- [3] Ross, J. W.: Solid — state and liquid membrane ion — selective electrodes. In: Ion-selective electrodes,

- ed. Durst, R. A., Washington: NBS, Spec. Publ. 314 (1969), 57.
- [4] Schindler, J. G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Technik 2, 20 (1975), 75.
- [5] Schindler, J. G., W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. Biomed. Technik 2, 20 (1975), 76.
- [6] Schindler, J. G., W. Riemann, W. Schäl: Kaliumselektive Scheiben-Elektrode mit Valinomycin für Durchflußmessungen. Biomed. Technik, 21 (1976), in Vorb.

K 9

Dr. Dr. J. G. Schindler und
W. Riemann

Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Dr. W. Schäl
Dr. E. Fresenius KG
Forschungsstelle Marburg/Lahn
Schlosserstraße 12
D-3550 Marburg/Lahn

Mitteilungen

Berlin:

Die XIV. Internationale Jahrestagung der Gesellschaft für Nuklearmedizin e. V.

wird vom 15. bis 18. September 1976 in der Berliner Kongreßhalle stattfinden. Hauptthema: Biokybernetik in der nuklearmedizinischen Diagnostik und Forschung, Funktions- und Lokalisationsdiagnostik, Pädia-trische Nuklearmedizin, Strahlenschutz und Dosimetrie, Fortschritte in Entwicklung und Anwendung nuklear-medicinischer Technologien (kompetitive Bindungs-analyse, Strahlungsmeßtechnik, Radiopharmaka), „Zu-kunft der Nuklearmedizin“. Außerdem finden Fortbil-dungsveranstaltungen für MTA bzw. Krankenpflege-personal statt.

Auskunft: Prof. Dr. K. Oeff, Nuklearmedizinische Ab-teilung im Klinikum Steglitz der Freien Universität, Hindenburgdamm 30, 1000 Berlin 45.

M 57

Arbeitskurse zum Verständnis der Anpassung von Hörgeräten

an der Universitäts-HNO-Klinik Freiburg

Vom Freitag, den 22. Oktober, bis Sonntag, den 24. Oktober 1976, wird an der Universitätsklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenkrankheiten, Freiburg i. Br., Killianstr. 5, der bekannte Arbeitskurs zum Verständ-nis der Anpassung von Hörgeräten wieder veranstaltet. Neben den Grundlagen für die audiometrische Unter-suchung und Anpassung von Hörgeräten auf weiter ausgebautem und durch neue statistische Ergebnisse ge-sichertem Stand vermitteln insbesondere auch prak-tische Übungen mit Patienten die Kenntnisse zur An-passung und Überprüfung derjenigen Hörgerätetypen, die den jeweils bestehenden individuellen Hörverlust optimal ausgleichen wird.

Interessenten bitten wir, sich bei der audiologischen Abteilung der Klinik voranzumelden, da die Platzzahl des Kurses beschränkt ist. Für Mitarbeiter, Assistenten und Assistenten ermäßigte Kursgebühren.

Auskunft: Priv.-Doz. Dr.-Ing. F. Keller, Universitäts-HNO-Klinik, Killianstraße 5, J D-7800 Freiburg. M 58

AM-Preis 1976 für Implantation des Herzschrittmachers

Der Aachener und Münchener Preis für Technik und angewandte Naturwissenschaften, der 1975 von der AM-Versicherung anlässlich ihres 150jährigen Jubilä-ums gestiftet worden ist, wird in diesem Jahr

Rune Elmqvist und Åke Senning verliehen.

Ausgezeichnet werden damit die Initiatoren der Im-plantation elektrischer Herzschrittmacher in Anerken-nung der großen humanitären Bedeutung des von ihnen erzielten grundsätzlichen Fortschritts in der Herzthera-pie. Die technische Entwicklung stammt von dem schwedischen Ingenieur Dr. Rune Elmqvist. Professor Dr. med Åke Senning, z. Z. Direktor der Chirurgischen Klinik der Universität Zürich, hat als Chirurg den erster Schrittmacher 1958 implantiert. Die beiden Preisträger haben eines der fruchtbarsten Therapie-verfahren entwickelt, das eine der größten Errungen-schaften des medizinischen Fortschritts in der letzten Zeit darstellt.

Auf der ganzen Welt verdanken inzwischen mehrere hunderttausend Patienten einem Herzschrittmacher ihr Leben. Neben der Verlängerung ihrer Lebenserwar-tung hat der Herzschrittmacher seinen Trägern aber auch eine erhebliche Verbesserung der Lebensqualität gebracht, die durch medikamentöse Behandlung nicht zu erreichen gewesen wäre. Dabei merkt der Patient so wenig von seinem Schrittmacher, daß er mitunter die Abhängigkeit seines Lebens von der Funktion dies-es technischen Gerätes vergißt.

Die Herzschrittmachtherapie ist das klassische Bei-spiel für den Nutzen der Zusammenarbeit von Inge-nieurwissenschaften und Medizin.

Kongresse/Veranstaltungen

Die Zusammenfassung erhebt keinen Anspruch auf Vollständig-keit. Da es erfahrungsgemäß zu Terminverschiebungen von Tagun-gen kommen kann, empfehlen wir, sich vor Besuch eines Kongresses das Datum durch die jeweils angegebene Auskunftsstelle be-stätigen zu lassen. Für irrtümliche Angaben wird jede Haftung ausgeschlossen.

2. Nachtrag

12.—16. 7. Hamburg

VIIth International Symposium on Organic Sulphur Chemistry
Gesellschaft Deutscher Chemiker

Geschäftsstelle
Postfach 11 90 75,
6000 Frankfurt/M. 8

25.—31. 7. Hamburg

10th International Congress of Biochemistry
Prof. Dr. P. Karlson, Institut für Physiologische Chemie d. Universität Lahnberge, 3500 Marburg/Lahn
1.—6. 8. Rio de Janeiro (Brasilien)
7th Congress of the Int. Fed. of Physical Medicine and Rehabilitation
Kongreßabteilung Deutschland KLM, Sendlinger Str. 37, 8000 München 2

2.—6. 8. Ottawa (Canada)

11th International Conference on Medical and Biological Engineering
M. K. Ward, Executive Secretary,

National Research Council of Canada
Ottawa (Canada), K 1 A 0R 6

15.—19. 8. Helsinki (Finnland)

XIII Internationaler Kongreß für Innere Medizin
Secretariat, P.O. Box 3,
SF 00291 Helsinki (Finnland)

15.—20. 8. Boston (USA)

9th International Biometric Conference
Kongreßabteilung Deutschland KLM,
Sendlinger Str. 37, 8000 München 2

23.—29. 8. Pécs (Ungarn)

Hungarian Society of Neurosurgery
(European Postgraduate Course)
Dr. Tibor Mércel, Neurosurgery of University of Medicine Pécs
H-7624 Pécs, Ifjuság ut. 33

- [4] Mellerowicz, H.: Ergometrie — Grundriß der medizinischen Leistungsbemessung, 1975, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien
- [5] Otis, A. B.: The work of breathing, Handbook of Physiology / Respiration I. American Physiological Society, Washington, 1964, 463—475
- [6] Pieper, I., H. P. Koepchen: Atmung, Physiologie des Menschen, Band 6, 1972, Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien
- [7] Ulmer, W. T., G. Reichel, D. Nolte: Die Lungenfunktion. Physiologie und Pathophysiologie. Methodik, 1976, G. Thieme, Stuttgart
- [8] Waterloh, E., H. Lueg, H. F. Rittel, G. Biener: Ergospirometrische Funktionsanalyse im vollautomatisch gesteuerten Untersuchungsgang mit direkter elektronischer Datenverarbeitung, Biomed. Technik 16, 1971, 142—145

364

Anschrift der Verfasser:
Dipl.-Informatiker D. Wendisch
Klinikum Charlottenburg
Experimentelle Chirurgie
Spandauer Damm 130
D-1000 Berlin 19

Biomed. Techn.
22 (1977), S. 209—211

J. G. Schindler
A. Mönnich
W. Riemann
H. E. Braun

Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode

Ionselective Multi-Disc-Electrode

Es wird eine ionenselektive Multi-Disk-Elektrode für Durchfluß- und stationäre Messungen mit calcium-, kalium- und anionenselektiven Kunststoffen beschrieben. Der Membranpotentialableitung dient ein acrylglasummantelter Pt-Draht. Die Anzahl der Sensoren ist variabel. Der Stromschlüsselkontakt zwischen Meß- und Bezugslösung erfolgt über einen PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder eine aufgeschweißte PTFE-Folie mit mechanisch oder durch fokussierten Laserstrahl erzeugtem Mikroleck. Das Gesamtsystem ist durch eine hohe Meßwertstabilität gekennzeichnet.

A multi-disc-electrode for flow and static measurements, using calcium-, potassium- and anion-selective polymer compositions is described. Ion-selective disc electrodes are electrochemical half-cells containing a disc-shaped polymer matrix with incorporated active phase, directly formed on the front face of a platinum wire with low drift potential, omitting the usual internal electrolytic conduction system. The platinum wire is enclosed in acrylic glass. The number of sensors may be varied. The capillary contact between the reference solution and the liquid under measurement is obtained with a leakage of less than 0.1 ml/24 h by a PTFE plug with a micro notch, inserted into a bottom hole of the reference chamber made of the same material, or by a micro leak in a PTFE foil welded to the bottom of the same chamber, the leak being produced mechanically or by using a focussed laser beam.

Überall dort, wo kontinuierliche Messungen verlangt werden, sind ionenselektive Elektroden hervorragende Detektoren. Sie gestatten eine reagenzienlose, trägheitsarme Messung. Änderungen im Störionenpegel können wegen unterschiedlicher Aktivierungsenergien vorübergehend angezeigt werden [1] und sind bei Durchflußmessungen mit elektrochemischen Multimeßsystemen [12] leichter erkennbar (Bild 3).

Es wird eine ionenselektive Multi-Disk-Elektrode beschrieben, die als Einstabmeßkette eine gleichzeitige Bestimmung verschiedener Ionen zuläßt und im Durchfluß betrieben werden kann, andererseits aber auch nach Absrauben der Durchflußkammer für einen stationären Betrieb geeignet ist (Bild 1).

Ionenselektive Disk-Elektroden [9, 10, 11, 12, 13] benutzen für die Membranpotentialableitung am

ionenselektiven Kunststoff die freie Stirnfläche eines acrylglasummantelten Pt-Drahtes. Ein derartiger Meßelektrodenaufbau erlaubt eine Bündelung vieler Sensoren auf engstem Raum (Bild 1). Im vorgegebenen Beispiel sind von fünf Meßstellenplätzen drei mit ionenselektiven Kunststoffen für Ca^{2+} , K^{+} und An^{-} beschickt. Die Anzahl der Sensoren ist darüber hinaus variabel. Die zur Meßflüssigkeit hin konkave Sensoroberfläche (Bild 1) und die strömungsgünstige Geometrie der Meßkammer vermeiden elektrokinetische Potentiale und gestatten einen Rollerpumpenbetrieb [9, 10, 12]. Die Sensorareale und die Stromschlüsselkontakte werden über radiale Zu- und Ableitungskanäle in einer wannenförmig abgeflachten Durchflußkammer mit einem Füllvolumen von circa 35 μl bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 20—50 $\mu\text{l}/\text{min}$ angeströmt. Der Stromschlüsselkontakt erfolgt über einen PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder

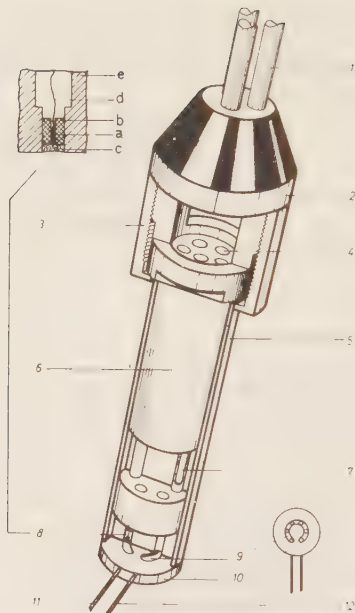


Bild 1. Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode für Durchflußmessungen

- 1 Zugentlastete Kabel
- 2 Elektrodenkopf
- 3 Überwurfmutter mit Bajonettverschluß
- 4 Führungskanäle für versilberte, PTFE-isolierte Cu-Litzen zu den ionenselektiven Sensoren bzw. der Bezugselektrode; Zu- und Ableitungen für den Referenz-Elektrolyten sind der Übersicht halber ebenso wie die Kabelführungen im Elektrodenkopf weggelassen.
- 5 Acrylglasshülse der abnehmbaren, wannenförmig abgeflachten Durchflußkammer
- 6 Elektrodenkörper aus PTFE
- 7 Bezugselektrode
- 8 Ionenselektiver Sensor
 - a) Pt-Draht
 - b) Acrylglassmantel
 - c) Ionenselektiver Kunststoff
 - d) Versilberte, PTFE-isolierte Cu-Litze
 - e) PTFE
- 9 Hufsenförmige Durchflußkammer (35 µl) mit ionenselektiven Sensoren für Ca^{2+} , K^{+} , An^{-} und zwei freien Meßstellen sowie einem PTFE-Stöpsel mit Mikrokerbe als Stromschlüsselkontaktzone
- 10 Bodenplatte der Acrylglasshülse mit eingefräster Durchflußkammer
- 11 Meßkammerzuluß
- 12 Meßkammerabfluß

eine aufgeschweißte PTFE-Membran mit mechanisch oder durch fokussierten Laserstrahl erzeugtem Mikroleck [10] bei einer Ausflußrate von weniger als 0,1 ml/24 h. Das der Multimeßkette nachgeschaltete Minipumpwerk saugt das Meßgut über die Sensoren und nachfolgend über die Stromschlüsselkontaktzone an, so daß Fehlmessungen durch den in die Meßlösung diffundierenden Referenz-Elektrolyten vermieden werden.

Mittels Überwurfmutter oder eines Bajonettverschlusses wird die Berandung der Durchflußkammer dicht gegen die Stirnfläche des Elektrodenkörpers gepreßt. Vorsprünge beiderseits der Meß-

kammer oder an ihrem verlängertem Acrylglassmantel und entsprechende Aussparungen im Elektrodenkörper oder -kopf gewährleisten die richtige räumliche Zuordnung von ionenselektiven Sensoren, Stromschlüsselkontaktzone und Durchflußkammer.

Die flüssige Matrix für die hier beschriebenen ionenselektiven Disk-Elektroden besteht aus in Cyclohexanon gelöstem PVC (15 %). Als aktive Phase für den calciumselektiven Sensor wurde der flüssige Ionenaustauscher Orion Nr. 98-20-02 gewählt. Der kaliumselektive Kunststoff [13] enthält Valinomycin [7] in Diphenyläther [8] und den valinomycinhaltigen Austauscher Orion Nr. 92-19-02 [3] in der PVC-Matrix. Der anionenselektive Detektor wurde mit der elektroaktiven Phase Trioctylmethylammoniumchlorid [4] aufgebaut. Die Elektrodenmembranen ($\phi = 2 \text{ mm}$) werden durch Vergießen der flüssigen ionenselektiven Kunststoffe mit anschließender Lufttrocknung hergestellt. Die Ag/AgCl-Bezugselektrode besitzt als Referenzelektrolyten eine 3 M KCl-Lösung. Der elektrochemische Meßaufbau ist mit Angabe der Selektivitätsverhältnisse in Bild 2 dargestellt.

Ag/AgCl	3M KCl	$\text{Ca}^{2+} (\text{a} \pm \text{x})$	Orion Nr 98-20-02 PVC Cyclohexanon	Pt	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
Ag/AgCl	3M KCl	$\text{K}^{+} (\text{a} \pm \text{x})$	Valinomycin Diphenyläther Orion Nr 92-19-02 PVC Cyclohexanon	Pt	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
Ag/AgCl	3M KCl	$\text{An}^{-} (\text{a} \pm \text{x})$	Trioctylmethylammoniumchlorid PVC Cyclohexanon	Pt	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$
					$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$		$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$	$\text{K}^{+} \text{a} \pm \text{x}$

Bild 2. Elektrochemischer Meßaufbau einer ionenselektiven Multi-Disk-Elektrode mit Angabe ihrer Selektivitätsverhältnisse

Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität wurden näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel [5] errechnet [1, 6].

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltenen Störionenaktivität bestimmt [1]. Die Querempfindlichkeit der beiden kationenselektiven Disk-Elektroden wurde für Störionenkonzentrationen von 150 mMol/l ermittelt, die des anionenselektiven Sensors für einen Störionenpegel von 25 mMol/l errechnet und auf Chloridionen bezogen. Die Selektivität gegenüber Protonen (pH 2,30) beziehungsweise Hydroxylionen (pH 11,00) wurde nach gleichem Prinzip durch pH-Glasmembran-Elektroden kontrolliert.

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für einwertige Ionen beträgt bei 20 °C 58,165 mV/Aktivitätsdekade und vermindert sich für mehrwertige um den Faktor der Ionenladung. Die EMK einer kationenselektiven Meßkette nimmt entsprechend der Vorzeichen für den Nernst-Faktor mit steigender Meßionenaktivität zu und verhält sich im Falle anionenselektiver Elektroden entsprechend umgekehrt. Die Elektrodensteilheit betrug in reinen Meßionenlösungen pro Aktivitätsdekade mindestens für Ca^{2+} 28,0 mV, für K^{+} 55,5 mV und Cl^{-} 55,0 mV.

Der calciumselektive Meßfühler besitzt einen Meßbereich bis 10^{-4} Mol/l bei linearer Anzeige zwischen 10^{-1} und 10^{-4} Mol/l, der kaliumselektive bis 10^{-7} mit linearem Verhalten zwischen 10^{-1} und 10^{-5} Mol/l und der anionenselektive bis 10^{-6} bei linearer Anzeige zwischen 10^{-1} und 10^{-3} Mol/l für Cl^{-} . Die Angabe der Linearität geschieht unter der Voraussetzung einer Delogarithmierung des Meßsignals.

Die Meßgenauigkeit der beiden kationenselektiven Disk-Elektroden beträgt $\pm 0,3$ mV und besser bei einer Anzeigegeschwindigkeit (100 %iger Endwert) von 10–30 sec bei physiologischen Meßwertschwankungen. Der anionenselektive Sensor zeigt in reinen NaCl-Lösungen bei gleicher Meßgenauigkeit Ionenaktivitätsdekadenänderungen in 20 bis 50 sec an.

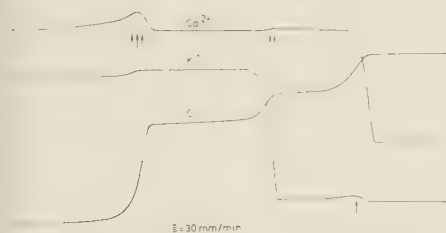


Bild 3. Vorübergehende Störionenanzeige bei plötzlicher Störionenpegeländerung lassen sich als solche mit ionenselektiven Multimeßketten leichter bei kontinuierlichen Durchflußmessungen erkennen

- ▲ Ca^{2+} -Effekt am K^{+} -selektiven Sensor
- ▲▲ K^{+} -Effekt am Ca^{2+} -selektiven Sensor
- ▲▲▲ Na^{+} -Effekt am Ca^{2+} -selektiven Sensor

Die ionenselektive Multi-Disk-Elektrode wird trocken aufbewahrt und ist unproblematisch zu handhaben. Vor Inbetriebnahme wird sie mit einer für alle Meßionen 10^{-1} M-Lösung bis zur stabilen Anzeige vorperfundiert. Aus elektrochemischen Gründen sollten die Eichlösungen in ihrer ionalen Zusammensetzung und Ionenstärke den Meßlösungen soweit wie möglich angeglichen sein.

Die Potentialmessungen wurden mit Digital-Elektrometern DE 751 der Fresenius Apparatebau KG, Bad Homburg v. d. H., durchgeführt.

Die Autoren danken der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutischen Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v. d. H. für die Förderung der Entwicklung elektrochemischer Sensoren für Physiologie und Medizin im Rahmen einer koordinierten Forschung.

Literatur

- [1] Cammann, K.: Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. 1973, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- [2] Cattall, R. W., H. Freiser: Coated Wire Ion Selective Electrodes. Anal. Chem. 43 (1971), 1905
- [3] Frant, M. S., J. W. Ross: Potassium Ion Specific Electrode with High Selectivity for Potassium over Sodium. Science 187 (1970), 987
- [4] James, H., G. Carmack, H. Freiser: Coated Wire Ion Selective Electrodes. Anal. Chem. 44 (1972), 856
- [5] Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. J. Amer. Chem. Soc. 59 (1937), 1675.
- [6] Metrohm: Ionen-spezifische Elektrode. Firmenschrift (1971).
- [7] Mueller, P., D. O. Rudin: Development of K^{+} - Na^{+} Discrimination in Experimental Bimolecular Lipid Membranes by Macrocyclic Antibiotics. Biochem. Biophys. Res. Commun. 26 (1967), 398
- [8] Pioda, L. A. R., V. Stankova, W. Simon: Highly Selective Potassium Ion Responsive Liquid-Membrane Electrode. Anal. Letters 2 (1969), 665
- [9] Schindler, J. G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase. Biomed. Techn., im Druck.
- [10] Schindler, J. G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Techn. 20 (1975), 75
- [11] Schindler, J. G., W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. Biomed. Techn. 20 (1975), 76
- [12] Schindler, J. G., W. Riemann: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v. d. H. 1. Aufl. (1977)
- [13] Schindler, J. G., W. Riemann, W. Schäl: Kaliumselektive Scheiben-Elektrode mit Valinomycin für Durchflußmessungen. Biomed. Techn. 21 (1976), 135

371

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

H. E. Braun
A. Mönnich
Dr. E. Fresenius KG
Forschungsstelle Marburg/Lahn
Schlosserstraße 12
D-3550 Marburg/Lahn



BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



URKUNDE
ÜBER DIE EINTRAGUNG DES UMSTEHENDEN
GEBRAUCHSMUSTERS

DIE SCHUTZFAHIGKEIT
UND DIE NEUHEIT DES GEGENSTANDES SIND
VOM DEUTSCHEN PATENTAMT
NICHT GEPRÜFT

DEUTSCHES PATENTAMT

*) Eine etwa bestehende Ausstellungspriorität kann auch dann geltend gemacht werden, wenn sie in der Urkunde nicht vermerkt ist.

Der Gebrauchsmusterschutz dauert drei Jahre, die mit dem Tage beginnen, der auf die Anmeldung folgt.

Gegen Zahlung einer Gebühr nach dem Tarif tritt eine Verlängerung der Schutzdauer um drei Jahre ein.

Die Verlängerungsgebühr ist innerhalb zweier Monate nach Beendigung der ersten Schutzfrist zu entrichten (§ 14 des Gebrauchsmustergesetzes).

Bei allen Eingaben wird Angabe der obenstehenden Rollen – Nummer erbeten.

101

München, den 30. November 1976
101/203

Dr. Dr. J.G. Schindler, 3550 Marburg/Lahn
Dr. E.Fresenius Chem.-pharm.Industrie KG, Apparatebau KG,
6380 Bad Homburg

Einstab-Meßkette für die elektrochemische Analyse

Die Erfindung bezieht sich auf eine Einstab-Meßkette für die elektrochemische Analyse, bei der mehrere Sensoren nebeneinander an der Stirnfläche eines Elektrodenkörpers angeordnet sind und diese Stirnfläche an eine Meßkammer angrenzt, die im Boden einer Elektrodenhülse ausgebildet und mit Zu- und Ableitkanälen versehen ist.

Erfindungsgemäß ist eine solche Einstab-Meßkette dadurch gekennzeichnet, daß die Meßkammer aus einem hufeisenförmigen Kanal besteht und daß die Sensoren auf dem Umfang eines dem Hufeisendurchmesser entsprechenden Kreises verteilt sind.

Die selektiv empfindlichen Sensoren können als Scheiben-elektroden, Glasmantel-Elektroden, Kristallmembran-Elektroden oder Einkristallmembran-Elektroden mit metallischem Festkontakt für die Ableitung des Membranpotentials ausgebildet sein. Zur Zuführung eines Bezugsselektrolyts kann ein Röhrchen dienen, dessen Stirnseite mit einem PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder einer PTFE-Folie mit Mikroleck als Stromschlüsselkontaktzone ausgebildet ist.

Die neue Einstab-Meßkette ist insbesondere für Durchflußmessungen geringer Flüssigkeitsmengen geeignet, kann aber wahlweise nach Abschrauben der Durchflußkammer auch im stationären Betrieb eingesetzt werden. Sie ist bei Verwendung einer Umwälzpumpe für den Bezugselektrolyten gravitationsunabhängig, wartungsfreundlich und weist in Abhängigkeit vom Sensortyp unterschiedliche bis zu einigen Jahren dauernde Funktionstüchtigkeit auf.

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird nachstehend an Hand der Zeichnung beschrieben. Diese zeigt in der Mitte eine teilweise aufgeschnittene perspektivische Darstellung der Neuerung; links oben ist ein Längsschnitt durch einen Sensor und rechts unten ein Querschnitt in Aufsicht auf die Meßkammerebene dargestellt.

Die von den einzelnen Sensoren kommenden und zu einem Millivoltmeter führenden, abgeschirmten Leitungen 1 sind in einem Kopfstück 2 zusammengefaßt, das in einen Gewinde- teil ausläuft. Mittels Überwurfmutter 3 kann das Elektro- dengehäuse 5 aus Acrylglas durch Bajonett- oder Schraub- verschluß lagegerecht befestigt werden. In dem Elektroden- gehäuse befindet sich ein Elektrodenkörper 6 aus PTFE. Er ist mit achsenparallel gerichteten Bohrungen 4 versehen, die zur Durchführung von Anschlußlitzen d (Abbildung links oben) aus versilbertem Kupfer dienen. Der Deutlichkeit halber sind diese Anschlußlitzen in der perspektivischen Darstellung weggelassen.

Nicht dargestellte Vorsprünge der Elektrodenhülse und dazu passende Aussparungen im Elektrodenkopf gewährleisten die richtige räumliche Zuordnung von ionenselektiven Sensoren, Stromschlüsselkontaktzone und Durchflußkammer.

Der Elektrodenkörper 6 ist in seinem mittleren Teil und am unteren Ende aufgebrochen dargestellt, um den Verlauf der Bohrungen für die Anschlußlitzen und den Sitz der Sensoren sowie der Bezugsselektrode zu zeigen. Der Aufbau eines Sensors ist in größerem Maßstab in der Abbildung links oben gezeigt, und zwar handelt es sich dort um eine Scheibenselektrode. Die mit PTFE isolierte Litze d ist mit einer Ableitелеktrode a aus Platin verbunden; letztere ist in einen Mantel b aus Acrylglas eingepreßt und ihre Stirnfläche steht in Berührung mit einer Scheibe c aus einem ionenselektiven Kunststoff. Es stehen verschiedene hierfür geeignete Materialien zur Verfügung, um z. B. Ca^{2+} , K^{+} und Cl^{-} -selektive Sensoren zu konstruieren. Statt der Scheibenelektroden bzw. zusätzlich zu diesen können Kristallmembran-Elektroden, Einkristallmembran-Elektroden und Glasmantel-Elektroden für verschiedene Bestandteile des Analysenmediums eingesetzt werden, beispielsweise Glasmantel-Elektroden für pH und pNa, eine Kristallmembran-Elektrode für pCl und eine Einkristallmembran-Elektrode für pF.

Alle Sensoren lassen sich gegen eine Bezugsselektrode 7 betreiben. Eine der Bohrungen 4 ist als Bezugsselektrodenkammer ausgebildet und an der Stirnfläche des Elektrodenkörpers 6 mit einem Stopfen aus PTFE verschlossen, der eine Mikrokerbe aufweist; statt des Stöpfens kann auch eine auf die Stirnfläche des Elektrodenkörpers aufgeschweißte PTFE-Folie mit einem Mikroleck verwendet werden. Das Mikroleck kann mechanisch oder mittels eines Laserstrahls erfolgt sein. Bei unter entsprechendem Überdruck stehender Bezugslösung ist die gesamte Meßkette gravitationsunabhängig.

Die Sensoren 8 und die Bezugsselektrode 7, die wie gesagt auf einem Kreis angeordnet sind, grenzen an eine im Boden 10 der Elektrodenhülse 5 ausgebildete hufeisenförmige Meßkammer 9 an. Die Meßkammer 9 ist mit Zu- und Ableitungskanälen 11 und 12 versehen und der Durchmesser des Hufeisens entspricht demjenigen des Kreises, auf dem die Sensoren angeordnet sind.

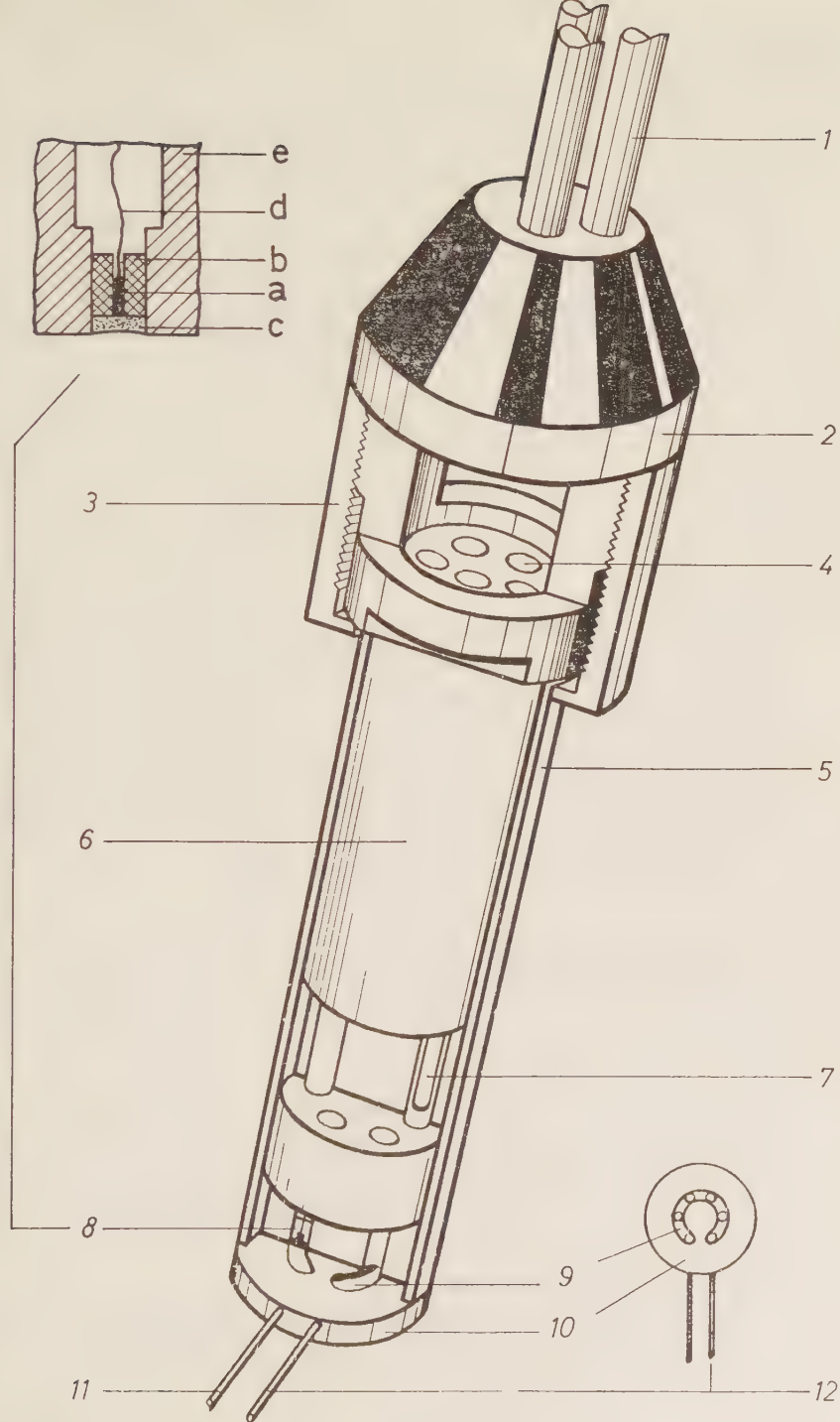
In einem ausgeführten Beispiel hatte die Elektrodenhülse 5 einen Außendurchmesser von etwa 20 mm; der Durchmesser des Elektrodenkörpers 6 betrug 17 mm. Es waren drei Sensoren 8 und eine Bezugselektrode 7 vorhanden; der Platz für zwei weitere Sensoren war freigehalten. Es konnten also z. B. Ca^{2+} , K^{+} und Cl^{-} gleichzeitig gemessen werden. Die in den Boden 10 der Elektrodenhülse 5 eingefräste Meßkammer 9 hatte eine Breite von etwa 2 mm und eine Tiefe von 0,4 bis 0,6 mm. Die lichte Weite der Anschlußleitungen 11 und 12 betrug etwa 0,5 mm. Der Durchmesser des Kreises, auf dem die Sensoren verteilt waren, und damit der Durchmesser des hufeisenförmigen Meßkammerkanals betrug etwa 11 mm. Das Gesamtvolumen der Meßkammer betrug infolgedessen nur 35 μl .

Die ionenselektiven Scheibenelektroden werden hergestellt, indem die Stirnfläche eines Platindrahtes a von z. B. 0,5 mm, der in Acrylglas b eingeschlossen ist, mit einer Lösung des ionenselektiven Kunststoffes überzogen wird. Beim nachfolgenden Trocknen des so gebildeten Scheibchens c bildet sich eine konkave Stirnfläche aus, die in Verbindung mit der vorteilhaften Gestalt der Meßkammer die Ausbildung elektrokinetischer Potentiale verhindert. Die aktive Phase des calciumselektiven Sensors ist das Calciumsalz der Diäcyolphosphorsäure, gelöst in Dioctylphenylphosphonat; für den kaliumempfindlichen Sensor wird Valinomycin in einem aromatischen Lösungsmittel (z. B. Diphenyläther) und für den chloridselektiven Sensor Trioctylmethylanmoniumchlorid verwendet. Alle drei aktiven Phasen sind in einer PVC-Matrix gelöst.

Die Einstab-Meßkette wird trocken gelagert. Vor der Ingebrauchnahme ist sie mit einer Lösung vorzuperfundieren, die Calcium-, Kalium- und Chloridionen in einer Konzentration von 0,1 Mol enthält, bis ein stationäres Ausgangssignal erreicht ist. Die Eichlösungen sollen den zu analysierenden Lösungen in Ionenzusammensetzung und Aktivität entsprechen.

Die zu analysierende Flüssigkeit wird beispielsweise mittels einer kleinen Rollerpumpe mit einer Durchflußgeschwindigkeit von etwa 30 bis 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ derart durch die Meßkammer geführt, daß sie zuerst die verschiedenen ionenselektiven Sensoren und dann die Kontaktzone der Bezugsselektrode berührt. Es ist aber auch möglich, die Elektrodenhülse 5 mit der Meßkammer 9 abzuschrauben und den Elektrodenkörper mit den Sensoren unmittelbar in die zu messende Flüssigkeit zu tauchen.

Zwecks Abschirmung gegen äußere Einflüsse kann die Elektrodenhülse mit einem Metallmantel umgeben sein (nicht dargestellt). Abschirmung und niederohmige Ag/AgCl -Bezugsselektrode können gemeinsam an die Erdung des Zuleitungskabels angeschlossen werden.



München, den 30. November 1970
101/203

Dr. Dr. J.G. Schindler, 3550 Marburg/Lahn
Dr. E.Fresenius Chem.-pharm.Industrie KG, Apparatebau KG,
6380 Bad Homburg

S c h u t z a n s p r ü c h e

1. Einstab-Meßkette für die elektrochemische Analyse, bei der mehrere selektiv empfindliche Sensoren nebeneinander an der Stirnfläche eines Elektrodenkörpers angeordnet sind und diese Stirnfläche an eine Meßkammer angrenzt, die im Boden einer Elektrodenhülse ausgebildet ist, dadurch gekennzeichnet, daß die Meßkammer (9) aus einem hufeisenförmigen Kanal besteht und daß die Sensoren (8) auf dem Umfang eines dem Hufeisendurchmesser entsprechenden Kreises verteilt sind.
2. Einstab-Meßkette nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine ebenfalls auf dem Umfang des Kreises im Elektrodenkörper (6) angeordnete Bezugselektrode (7) mit einem kapillaren Mikroleck.
3. Einstab-Meßkette nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Sensoren wahlweise als Scheibenelektrode, Glasmantel-Elektrode, Kristallmembran-Elektrode oder Einkristallmembran-Elektrode mit metallischem Festkontakt ausgebildet sind.
4. Einstab-Meßkette nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Elektrodenhülse von einer metallischen Abschirmung umgeben ist.

5. Einstab-Meßkette nach einem der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch ineinandergreifende Vorsprünge und Aussparungen an der Elektrodenhülse und im Elektrodenkopf, welche die richtige räumliche Zuordnung von ionenselektiven Sensoren, Stromschlüsselkontaktzone und Durchflußkammer gewährleisten.

Kurzmitteilung

Siloxanverbindungen als aktive Komponenten in ionenselektiven Elektrodenmembranen

J. G. Schindler, G. Stork, H.-J. Strüh, W. Schäl

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Fachbereich Chemie der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Dr. E. Fresenius KG
Chem.-pharm. Industrie KG
Apparatebau KG
Kirdorfer Straße 13
D-6380 Bad Homburg v.d.H.

Komplexbildner mit Ringstruktur zogen schon immer das besondere Interesse der Analytiker auf sich. Bei der Suche nach neuen ionenselektiven Grundsubstanzen für Membran-Elektroden wurden diese Verbindungen öfters getestet; bisher wurde über die Eignung von Carrier-Antibiotika (1), von denen Valinomycin und Nonactin die bekanntesten sind, und Kronenäthern (2) berichtet.

Ionenselektive Elektroden mit ringförmigen Siliciumverbindungen als aktive Komponenten wie Octaphenylcyclotetrasiloxan sind bisher nicht beschrieben worden. Von der Struktur her war zu erwarten, daß die Verbindung als Komplexbildner besonders für A-Kationen fungieren sollte. Dies bestätigte sich, wobei nicht nur allgemeine Kationensensitivität, sondern sogar eine recht ausgeprägte Selektivität gegenüber bestimmten Ionen festzustellen war. Mit dieser Elektrode ist es gelungen, eine neue Grundsubstanzklasse für die Verwendung in ionenselektiven Elektroden zu erschließen. Die große Zahl von Siloxanverbindungen eröffnet die Möglichkeit, eine ganze Reihe solcher Elektroden zu konstruieren.

Zur Herstellung der Membran wurde eine Lösung von 30 mg Octaphenylcyclotetrasiloxan in 0,1 ml Tris(2-äthylhexyl)-phosphat als Weichmacher und 0,3 ml 15 %-iger PVC-Lösung (Lösungsmittel: Cyclohexanon) verwendet. Aus dieser Menge kann eine Vielzahl von Membranen hergestellt werden. Zur Membranpotentialableitung wird die freie Stirnfläche eines acrylglasummantelten Pt-Drahtes nach dem Prinzip der Disk-Elektrode (3,4) verwendet. Die Meßkette wurde mit einer Ag/AgCl-Bezugselektrode und einem 3 M KCl-Referenzelektrolyten komplettiert.

Die Elektrode ist nach kurzer Konditionierung in 10^{-1} M Meßionenlösung einsatzbereit. Die Einstellzeit (95 %-ige Endwertanzeige) liegt im Bereich von 30 s bei Aktivitätsänderungen von einer Dekade. Zwischen den Messungen kann die Elektrode trocken aufbewahrt werden.

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt. Die Aktivitätskoeffizienten wurden nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel errechnet.

In Abb. 1 sind die Eichkurven für H^+ und Li^+ in ungepufferten Lösungen sowie die Selektivitätssequenz für Alkali- und Erdalkalitionen, von denen letztere stärker diskriminiert werden, dargestellt. Innerhalb einer Hauptgruppe ist eine gewisse Korrelation zwischen Selektivitätskoeffizienten und Ordnungszahlen festzustellen. Unter Berücksichtigung der selektiven Eigenschaften kann die Elektrode als pH-Elektrode oder lithiumselektive Elektrode fungieren.

Die Vielfalt der Siloxanverbindungen - cyclisch, offenkettig, polymer - und die Möglichkeit einer Optimierung der Membraneigenschaften durch Weichmachereffekte lassen für die Zukunft interessante Aspekte für die elektrochemische Analytik erwarten.

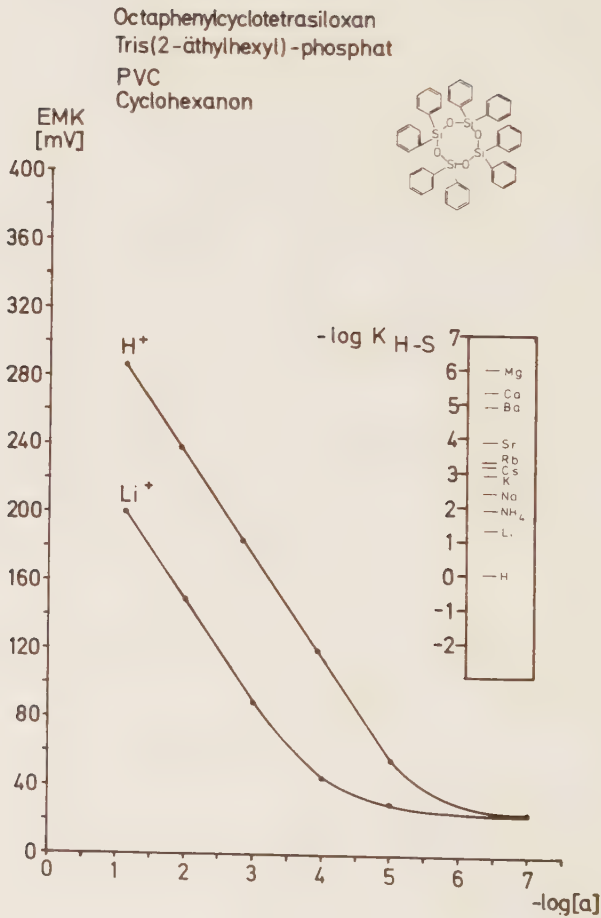


Abb. 1
Eichkurven für H^+ und Li^+ , Selektivitätssequenz

Literaturverzeichnis

- 1 Ammann, D., R. Bissig, Z. Cimerman, U. Fiedler, M. Guggi, W.E. Morf, M. Oehme, H. Osswald, E. Pretsch, W. Simon: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: Kessler, M., L.C. Clark, D.W. Lübbers, I.A. Silver, W. Simon: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 22.
- 2 Rechnitz, G.A., Ehud Eyal: Anal. Chem. 44 (1972), 370.
- 3 Schindler, J.G.: Biomed. Techn. 22 (1977), 235.
- 4 Schindler, J.G., W. Riemann: Biomed. Techn. 20 (1975), 75.

Anschriften der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler
Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Prof. Dr. G. Stork
H.-J. Strüh
Fachbereich Chemie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Dr. W. Schäl
Dr. E. Fresenius KG
Chem.-pharm. Industrie KG
Apparatebau KG
Kirdorfer Straße 13
D-6380 Bad Homburg v.d.H.

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 15, 1977, pp. 709–713

Ein Durchflußmeßsystem zur O₂-sensitiv-enzymatischen Glucose-Analyse

Von J. G. Schindler, W. Riemann,

Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn,

D. Sailer, G. Berg,

Abteilung für Stoffwechsel und Ernährung (Vorsteher Prof. Dr. Dr. h. c. G. Berg) in der Medizinischen Klinik mit Poliklinik der Universität Erlangen-Nürnberg

und

W. Schäl,

Dr. E. Fresenius KG, Forschungsstelle Marburg/Lahn

(Eingegangen am 18. Juni/30. Juli 1977)

Zusammenfassung: Es wird ein Durchflußmeßsystem zur O₂-sensitiv-enzymatischen Glucose-Analyse beschrieben. Leckstromsicher verschweißte PTFE-Membranen tragen erheblich zur Wartungsfreundlichkeit der O₂-Sensoren bei. Die Anwendung löslicher oder immobilisierter Glucoseoxidase stellen Alternativen für Analysenautomaten dar. Bleibt man beim Prinzip der O₂-Elektrode, so können auch andere enzymatische Reaktionen mit O₂-Umsatz gemessen werden.

A flow-through method for the O₂-sensitive, enzymatic analysis of glucose

Summary: A flow-through glucose-analyser is described based on an oxygen-sensitive enzymatic system. Leak-current-proof welded PTFE-membranes contribute considerably to an easy maintenance of the O₂-sensors. Soluble or immobilized glucose oxidase may be used in automatic analysers. As a primary instrument of analysis, the oxygen pO₂-electrode lends itself to the measurement of other enzymatic reactions that involve oxygen.

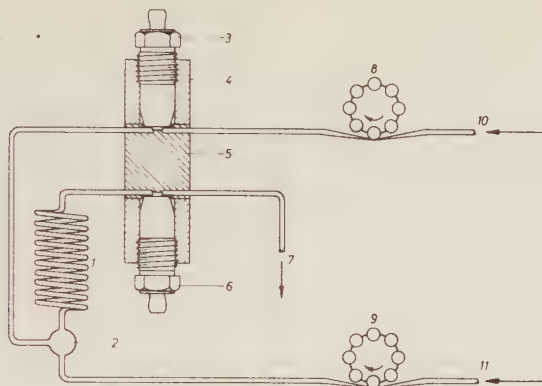
Einführung

Elektrochemisch-enzymatische Meßverfahren haben im Hinblick auf klinisch-chemische Analysen-Automaten und kontinuierliche Direktmessungen am Patienten neben ionenselektiven Disk-Elektroden (1–4) und Gassensoren (1, 3) in elektrochemischen Multimeßsystemen (1, 3) einen besonderen Stellenwert. Grundlage der elektrochemisch-enzymatischen Analytik ist die Messung von Ionen (4, 5) oder Gasen (6, 7) nach enzymatischem Substratumsatz. Eine andere Möglichkeit sieht ein amperometrisches Verfahren vor, bei dem eine Platinelektrode mit einer Enzymschicht beschickt wird und der Ablauf der Enzymreaktion an einen Redoxprozeß gekoppelt ist, so daß eine Stromstärkemessung in Relation zur Substratkonzentration

über die elektrolytische Oxidation des reduzierten Akzeptors möglich wird (8). Ionenselektive (4) und gassensitive Messungen in elektrochemisch-enzymatischen Analysensystemen ermöglichen bei zwei gleichartigen Sensoren, eine plötzlich nicht enzymatisch bedingte Pegeländerung von Meßion oder -gas in der Probenflüssigkeit zu korrigieren.

Im folgenden wird daher ein O₂-sensitiv-enzymatischer Glucose-Durchflußanalysator mit zwei polarographisch arbeitenden Pt-Elektroden vorgestellt, die durch leckstromsicher verschweißte PTFE-Membranen wartungsfreundlich sind. Dabei wird der Sauerstoffverbrauch nach partiellem Umsatz von β -D-Glucose zu Glukonsäure zeitkonstant elektrochemisch gemessen.



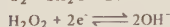
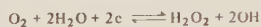
Abb. 1. O₂-sensitiv-enzymatisches Durchflußmeßsystem

- 1 Enzym-Reaktor
- 2 Mischkammer
- 3 O₂-Sensor I
- 4 Metallrahmen
- 5 Parallelepipedischer Isolierkörper aus Acrylglas mit eingefrästen Meßkammern (1 µl)
- 6 O₂-Sensor II
- 7 Abfluß
- 8 Rollerpumpe I
- 9 Rollerpumpe II
- 10 Meßlösung
- 11 Enzymlösung (pO₂ konstant)

Technik und Methodik

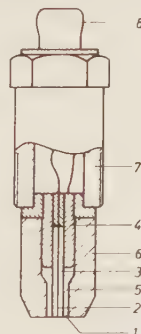
Zwei in Reihe geschaltete pO₂-Elektroden grenzen an nacheinander von dem Stromungsmittel durchflossene Meßkammern mit einem Füllvolumen von 1 µl. Beide sind in strömungsgünstiger Geometrie als wannenförmig abgeflachte Vertiefung an der Oberfläche eines parallelepipedischen Isolierkörpers ausgebildet und über radiale Zu- und Ableitungskanäle erreichbar sowie durch einen Enzymreaktor, der das Enzym auch in immobilisierter Form beherbergen kann, getrennt (Abb. 1). Bei Substratumsatz mit löslicher Glucoseoxidase wird das Enzym vor dem Reaktor mit einer zweiten Pumpe kontinuierlich zugemischt (Abb. 1). Ein Metallrahmen übernimmt die richtige räumliche Zuordnung der Meßstellenplätze; die Sensoren werden in „zündkerzenartiger“ Bauform unter Zuhilfenahme eines Drehmomentschlüssels mit der Stirnfläche dichtend gegen die Berandung der Durchflußkammer angezogen. Die Messungen werden bei konstanter Temperatur durchgeführt.

Die Messung des Sauerstoffpartialdruckes basiert auf dem Reduktionsstrom bei konstanter Spannung im Bereich des Diffusionsgrenzstromes als Maß für die in der Zeiteinheit die Platin-kathode erreichenden O₂-Moleküle (9, 10). Silberanode, Elektrolytlösung gepuffert (10a) oder ungepuffert – z. B. 0,2 mol/l KCl- und ionenundurchlässige, aber gaspermeable PTFE-Membran komplettieren die O₂-Elektrode (Abb. 2). Der Mechanismus der kathodischen Sauerstoffreduktion dürfte im neutralen oder alkalischen Medium wahrscheinlich folgendermaßen ablaufen (11):



Kinetik und noch nicht vollständig geklärter Reaktionsablauf stehen immer wieder im Mittelpunkt von Untersuchungen (12). Die Reaktionsgeschwindigkeit der kathodischen Sauerstoffreduktion nimmt in folgender Reihenfolge Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺ und (C₂H₅)₄N⁺ ab und kann als spezifische Wirkung der Kationen gedeutet werden (12).

Als treibende Kraft für den transmembranösen Gastransport ist der O₂-Partialdruck verantwortlich. Bei der in Abbildung 2 dargestellten Konstruktion mit wahlweise auch mehreren stirnflächenfreien 15 µm Pt-Drahtseelen in einem höchstens 1 mm starken (φ) Glasmantel erübrigen sich besondere Maßnahmen wie

Abb. 2. O₂-Sensor

- 1 Leaktomscher verschweißte PTFE-Membran
- 2 Pt-Kathode
- 3 Glasisolationsmantel
- 4 Ag-Anode
- 5 Innen-Elektrolytlösung z. B. 0,2 mol/l KCl
- 6 Abnehmbare PTFE-Kappe
- 7 Gewinde M8 × 0,75
- 8 Steckkontakt
- Sechskant (SW 8) für Drehmomentschlüssel
- Sensorlänge 25 mm

ein Rauhschleifen des die Platinkathode umgebenden Glasisolationsmantels oder Einlegen eines 12 µm starken Cellophanplättchens (11, 13) zwischen Membraninnenseite und glasummantelter Pt-Kathode. Trotz der Verwendung von Kunststoffteilen für das Meßsystem ist die Anzeige stabil und reproduzierbar, da sich ein Fließgleichgewicht zwischen O₂-Eigenverbrauch der Meßfühler, der geringen Löslichkeit von Gasen in den Kunststoffteilen des Gesamtsystems und dem O₂-Angebot des Meßgutes einstellt. Eine Sauerstoffverarmung an der Membranaußenfläche kann bei Durchflußmessungen nicht auftreten, da eine Teilchenbewegung per se stattfindet.

pO₂-Elektroden werden nach Erneuerung gealterter Innen-Elektrolytlösungen wieder einsetzbar. Daher trägt eine abnehmbare PTFE-Kappe mit leckstomsicher verschweißter circa 12 µm starker PTFE-Membran erheblich zur Wartungs- und Benutzerfreundlichkeit dieser Sensoren bei. Anstelle bisher üblicher mechanischer Befestigung der gaspermeablen Folie durch O-Ring oder Faden wird mit einer Verschweißung der PTFE-Membranen auf eine aus dem gleichen Material bestehende Hülse (Abb. 3) eine leckstomsichere Inbetriebnahme gewährleistet. Das Verschweißen wird mit einem Widerstandsschweißgerät unter fortlaufender Kontrolle der Schweißtemperatur am Schweißformwerkzeug mittels NiCr-Konstantan-Thermoelementen bei einer Temperatur von etwa 395°C (Abb. 4) durchgeführt (1–3). Zur Dichtigkeitskontrolle der Schweißnaht erfolgt eine Leckstromprüfung.

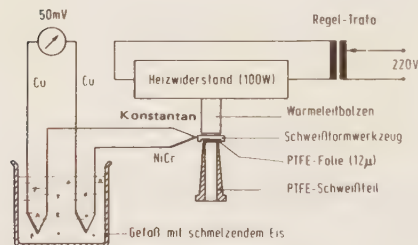


Abb. 3. Schema der Schweißtechnik für PTFE-Folien

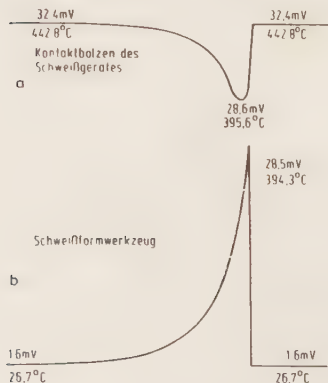


Abb. 4. NiCr-Konstantan-Thermospannungen bei PTFE-Folienverschweißungen an elektrochemischen Sensoren. Papiertransport: 30 mm/min (a), 10 mm/min (b).

Der Reduktionsstrom ist im Bereich des Diffusionsgrenzstromes proportional dem Sauerstoffangebot aus dem Meßmedium und steigt außerdem etwa proportional mit der Größe der Kathodenflächen. Die Wahl einer möglichst kleinen Kathodenfläche ist vorteilhaft, weil der durch die Messung bedingte Verbrauch an Sauerstoff unter dieser Voraussetzung nur sehr gering ist. Dadurch erst wird es möglich, in sehr geringen Probenvolumina bzw. bei sehr geringen Strömungsgeschwindigkeiten stabile Meßwerte zu erhalten. Bei einem Durchmesser von 15 µm der kreisförmigen Kathodenfläche liegt der Reduktionsstrom in der Größenordnung von 10 pA/mbar, so daß an den verwendeten Strommesser sehr hohe Anforderungen hinsichtlich Empfindlichkeit und Stabilität zu stellen sind. Es ist außerdem zweckmäßig, die Erzeugung der Polarisationsspannung unmittelbar in den Meßkreis zu integrieren. Das Prinzip der hierzu verwendeten Schaltung ist in Abbildung 5a und 5b dargestellt. Hauptbestandteil des Strommessers ist ein Operationsverstärker, dessen Eingangsstrom wesentlich kleiner als die zu messenden Ströme sein muß (< 0,1 pA). Der zu messende Strom I_e wird durch den Operationsverstärker über den Meßwiderstand R_M selbsttätig kompensiert. Die sich einstellende Ausgangsspannung gehorcht der Beziehung $U_a = I_e R_M / (1 - k)$, wobei der Faktor k zur Kalibrierung an einem Potentiometer eingestellt werden kann. Die einstellbare Polarisationsspannung wird dem zweiten Eingang des Operationsverstärkers zugeführt und kann zur Kontrolle über einen Umschalter auf das Anzeigeinstrument geschaltet werden. Zur direkten Anzeige der Differenz der Ströme von zwei Elektroden wird die in Abbildung 5 angegebene Anordnung benutzt, bei der die Ausgänge von zwei Strommessern mit den Eingängen eines Differenzverstärkers verbunden sind.

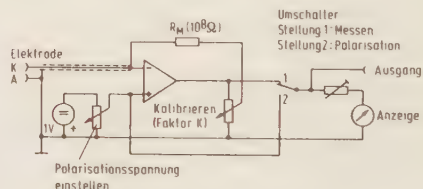


Abb. 5a. Prinzipschaltbild des Strommessers

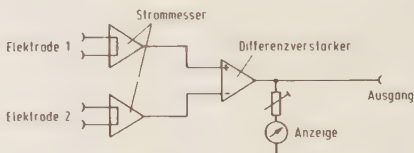


Abb. 5b. Differenzbildung von zwei Strom-Meßkreisen

Ergebnisse

An einem bei 37°C thermostatisierten Meßplatz wurden die O₂-Sensoren mittels wasserdampfgesättigter Gase fortlaufend angeströmt und kalibriert. Die Anzeigegewindigkeit (100% Endwert) lag bei 10 bis 30 s. Die Elektrodensteilheit betrug bei konstanter Polarisationsspannung von 800 mV 2×10^{-2} nA/Torr O₂ bei einer Meßgenauigkeit von $\pm 1,0$ Torr O₂ oder besser. In Abwesenheit des Depolarisators O₂ liefern N₂ und CO₂ in neu abgefüllten Innen-Elektrolytlösungen bei einem Auflösungsvermögen des Meßgerätes von 10^{-2} nA einen Grundstrom von maximal 0,01 nA, der in gealterten bis auf 0,05 nA ansteigen kann. Elektrochemisch-

enzymatische Glucose-Bestimmungen wurden mit löslicher Glucoseoxidase im Überschuß bei Reaktorzeiten von 10 bis 20 s durchgeführt. Der bis auf 27,8 mmol/l (5 g/l) ausgelegte Meßbereich wurde mit Standardlösungen und Kontrollseren zwischen 2,78 und 27,8 mmol/l (0,50 und 5,00 g/l) ausgetestet. Die Meßwerte sind auf 30 mg/l und besser reproduzierbar. Beide O₂-Sensoren können mit getrennter Signalverarbeitung betrieben werden oder gekoppelt eine Differenzmessung durchführen. Der Sensor I (Abb. 1) übernimmt in jedem Fall Detektoraufgaben hinsichtlich der pO₂-Konstanz der Meßlösung.

Das Gesamtsystem ist robust und einfach zu bedienen. Die leckstromsicher verschweißte PTFE-Membran der O₂-Sensor trägt erheblich zur Wartungsfreundlichkeit bei.

Diskussion

Elektrochemisch-enzymatische Meßverfahren zur Bestimmung von Glucose (6–8, 14–21) stellen eine Bereicherung dar.

Bei der amperometrischen Bestimmungsmethode von Glucose (8) ist Hexacyanoferrat(-III) ein möglicher Elektronenakzeptor, der das Enzym in die oxidierte Form zurückzuführen vermag, wobei das resultierende Hexacyanoferrat(-II) an einer Pt-Elektrode oxidiert wird. Durch Nebenreaktionen auch im Hinblick auf die stets in Spuren vorhandene Katalase und die Möglichkeit, daß Hexacyanoferrat(-II) durch H₂O₂ oxidiert wird, geht ein Teil des Meßstromes verloren; andererseits kann durch reduzierende Metaboliten ein Zusatzstrom gemessen werden. Dagegen stellen die geringen Konzentrationen von Enzyminhibitoren oder strukturmäßig ähnliche Zucker wie die 2-Desoxy-D-glucose in physiologischen Flüssigkeiten keinen wesentlichen Störfaktor dar (8).

Mittels zweier Jodid-Elektroden läßt sich der Glucoseumsatz über die durch Peroxidase katalysierte Zweit-

reaktion in Abwesenheit einiger Oxidations- und Reduktionsmittel messen (18).

Dagegen lassen sich Konkurrenzreaktionen mit reduzierenden Substanzen durch auf der Erstreaktion basierende O₂-sensitiv-enzymatische Bestimmungsverfahren vermeiden (22). Um der Zersetzung von H₂O₂ durch Katalase-Fremdaktivität und damit einer unerwünschten O₂-Freisetzung vorzubeugen, kann durch Ethanolzusatz in der Zweitreaktion ein sauerstoff-freier Umsatz katalysiert werden (22) oder durch Jodid- und Molybdat-Zugabe eine quantitative Zersetzung von H₂O₂ (17) in lange gelagerten katalasearmen Reagenzien erzwungen werden (22). Die Meßtechnik mit zwei gleichartigen pO₂-Sensoren erlaubt, eine aus anderen Gründen als der hochspezifischen Enzymreaktion resultierende Partialdruckänderung des Sauerstoffes im Probenmedium zu erkennen. Dies ist im Hinblick auf fortlaufende Messungen von erheblicher Bedeutung. Immobilisierte Enzyme (23–31) stellen eine wirtschaftlichere Alternative als die Verwendung löslicher Enzyme für Analysenautomaten dar. In dieser Hinsicht verdienen Schlauchreaktoren mit wandständig fixierten Enzymen (32, 33) besonderes Interesse. Somit steht für die mechanisierte, kontinuierliche patientennahe in vivo-Analyse der Blutglucose (34–37) eine einfache, schnelle und zuverlässige Methodik auf kleinstem Raum zur Verfügung.

Verschiedene Verfahren zur elektrochemisch-enzymatischen Bestimmung von Harnsäure (38), Hypoxanthin und Xanthin (3) und Cholesterin (39, 40) wurden erarbeitet beziehungsweise vorgeschlagen. Auch Alkohol-Oxidase (41) und L-Aminosäure-Oxidase (19, 42, 43) katalysierte Reaktionen lassen sich in die Reihe O₂-sensitiv-enzymatischer Messungen einordnen.

Bleibt man beim Prinzip der O₂-Elektrode, so dürften alle diese enzymatischen Reaktionen unter O₂-Umsatz mit dem hier vorgestellten Analysensystem gemessen werden können.

Literatur

1. Schindler, J. G. (1977), *Biomed. Techn.* 22, 235–244.
2. Schindler, J. G. & Riemann, W. (1975), *Biomed. Techn.* 20, 75–76.
3. Schindler, J. G. & Riemann, W. (1977), *Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin*. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v. d. H. 1. Aufl.
4. Schindler, J. G., Schindler, R. G., Aziz, O., *Durchflußsystem zur NH₄⁺-selektiven Harnstoffmessung*. In Vorbereitung.
5. Guilbault, G. G. (1971), *Pure Appl. Chem.* 25, 727–740.
6. Clark, L. C. & Sachs, G. (1968), *Bioelectrodes for Tissue Metabolism*. In: *Bioelectrodes* (Feder, W., Weyer, E. M., Krauss, M. & La Miranda, A. G. eds.), *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 148, 133–153.
7. Updike, S. J. & Hicks, G. P. (1967), *Nature* 214, 986–988.
8. Mindt, W., Racine, Ph. & Schlapfer, P. (1973), *Ber. Bunsen-Ges. Phys. Chem.* 77, 804–808.
9. Clark, L. C. (1956), *Trans. Amer. Soc. Art. Int. Organs* 2, 41–49.
10. Clark, L. C., Wolf, R., Granger, D. & Taylor, Z. (1953), *J. Appl. Physiol.* 6, 189–193.
- 10a. Gambino, R., Thiers, R., Becker, S. & Bates, G. D. (1970), *Stand. Meth. Clin. Chem.* 6, 171–182.
11. Gleichmann, U. & Lübbers, D. W. (1960), *Pflügers Arch.* 271, 431–455.
12. Fabjan, C., Lopeis, A. & Neckel, A. (1976), *Monatsh. Chem.* 107, 1209–1219.
13. Thews, G. (1962), *Pflügers Arch.* 276, 89–98.
14. Guilbault, G. G. & Lubrano, G. J. (1972), *Anal. Chim. Acta* 60, 254–256.
15. Guilbault, G. G. & Lubrano, G. J. (1973), *Anal. Chim. Acta* 64, 439–455.

16. Martiny, S. C., Jensen, O. J. (1976), An Enzyme Electrode Based on Immobilized Glucose Oxidase. In: *Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine* (Kessler, M., Clark, L. C., Lübbers, D. W., Silver, I. A., Simon, W. eds.), S. 198–199, Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien.
17. Mell, L. D. & Maloy, J. T. (1976), *Anal. Chem.* **48**, 1597–1601.
18. Nagy, G., von Storp, L. H. & Guilbault, G. G. (1973), *Anal. Chim. Acta* **66**, 443–455.
19. Nanjo, M. & Guilbault, G. G. (1974), *Anal. Chim. Acta* **73**, 367–373.
20. Nilsson, H., Akerlund, A.-C. & Mosbach, K. (1973), *Biochim. Biophys. Acta* **320**, 529–534.
21. Silver, I. A. (1976), An Ultra Micro Glucose Electrode. In: *Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine* (Kessler, M., Clark, L. C., Lübbers, D. W., Silver, I. A. & Simon, W. eds.), S. 189–192. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien.
22. Firmenschrift Beckman: Bedienungsanleitung für den Glukose-Analysator. (1973)
23. Bowers, L. D. & Carr, P. W. (1976), *Anal. Chem.* **48**, 544A–559A.
24. Dunn, I. J. (1975), *Chimia* **29**, 103–109.
25. Fishman, M. M. & Schiff, H. F. (1976), *Anal. Chem.* **48**, 322R–332R.
26. Konecny, J. (1975), *Chimia* **29**, 95–102.
27. Krasnobajew, V. & Böniger, R. (1975), *Chimia* **29**, 123–131.
28. Manecke, G. (1974), *Chimia* **28**, 467–474.
29. Nelboeck, M. & Jaworek, D. (1975), *Chimia* **29**, 109–123.
30. Orth, H. D. & Brümmer, W. (1972), *Angew. Chem.* **84**, 319–330.
31. Weetall, H. H. (1976), *Chimia* **30**, 429–430.
32. Filippusson, H., Hornby, W. E. & McDonald, A. (1972), *FEBS Letters* **20**, 291–293.
33. Morris, D. L., Campbell, J. & Hornby, W. E. (1975), *Biochem. J.* **147**, 593–603.
34. Berg, G. & Sailer, D. (1977), Experience in Glucose Metabolism Monitoring. In: *Blood Glucose Monitoring. Methodology and Clinical Application of Continuous in Vivo Glucose Analysis* (Kruse-Jarres, J. D. & Molnar, G. D. eds.). *Horm. Met. Research. Supp.* **7**, 41–53.
35. Sailer, D., Kellner, R. & Berg, G. (1977), *Intensivmedizin, im Druck.*
36. Sailer, D., Berg, G. & Matzkies, F. (1974), *Biomed. Techn.* **19**, 134–137.
37. Sailer, D., Kellner, R., Eberlein, W. & Berg, G. (1976), *Biomed. Techn.* **21**, Ergänzungsband 195.
38. Nanjo, M. & Guilbault, G. G. (1974), *Anal. Chem.* **46**, 1769–1772.
39. Clark, L. C. & Emory, C. R. (1976), The Measurement of Cholesterol and its Esters Using a Polarographic Anodic Enzyme Electrode. In: *Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine* (Kessler, M., Clark, L. C., Lübbers, D. W., Silver, I. A. & Simon, W. eds.) Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien S. 161–172.
40. Papastathopoulos, D. S. & Rechnitz, G. A. (1975), *Anal. Chem.* **47**, 1792–1796.
41. Guilbault, G. G. & Lubrano, G. J. (1974), *Anal. Chim. Acta* **69**, 189–194.
42. Guilbault, G. G. & Hrabánková, E. (1970), *Anal. Chem.* **42**, 1779–1783.
43. Guilbault, G. G. & Lubrano, G. J. (1974), *Anal. Chim. Acta* **69**, 183–188.

Dr. Dr. J. G. Schindler
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Dr. D. Sailer
Prof. Dr. Dr. h. c. G. Berg
Abteilung für Stoffwechsel und Ernährung
in der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Krankenhausstr. 12
D-8520 Erlangen

Dr. W. Schäl
Dr. E. Fresenius KG
Forschungsstelle Marburg/Lahn
Schlosserstr. 12
D-3550 Marburg/Lahn

Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse
von Harnstoff

Teil I: Ammoniumselektive Disk-Elektrode mit dem Carrier-
Antibiotikum Nonactin

Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin
Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

Zusammenfassung

Die Membran der beschriebenen ammoniumselektiven Disk-Elektrode besteht aus einer PVC-Matrix mit der aktiven Phase Nonactin in Tris(2-äthylhexyl)-phosphat und Diphenyl-äther als ionenselektivem Kunststoff, der einerseits mit der Stirnfläche eines acrylglasummantelten Pt-Drahtes mit geringem Driftpotential und andererseits mit der Meßflüssigkeit Kontakt hat, wobei sich an dieser Phasengrenze eine Potentialdifferenz ausbilden kann.

The membrane of the described ammonium-selective disc-electrode consists of a PVC-matrix with an active phase of nonactin in tris(2-ethylhexyl)phosphate and diphenyl ether as the ion-selective plastic, one side of which is in contact with the solution to be measured and the other with the front surface of a platinum wire, which is enclosed in acrylic glass. This arrangement results in a very low drift potential.

Einleitung

Carrier-Antibiotika mit selektiven Transporteigenschaften für Kationen an natürlichen und künstlichen Membranen besitzen Interesse zur Erforschung von Transportvorgängen (8,14,19,21,22,23,24,29,40,42,45,50,51,59,60,61,63,73) und Herstellung ionenselektiver Sensoren (3,7,16,31,34,41,47,49,55,56,57,58,61,62,64).

Metallkomplexe makrocyclischer neutraler Moleküle der Valinomycin-Gruppe - Valinomycin (15,44,61), Enniatin A, B und C (60,72), Makrotetrolide (4,11,48,52), Antamanid (26,69,70) und Beauvericin (61) - sind positiv geladen (61), monobasischer Säuren der Nigericin-Gruppe - Nigericin (14,36,65,66), Monensin (36,37,65), Grisorixin (2,17), Diane-mycin (9,65), X-206 (6), X-537A (27,28,38,68) - elektrisch neutral (61). Acyclische Antibiotika bauen bei der Komplexbildung einen Pseudocyclus um das Kation (10).

Unphysiologische Kationentransporte an biologischen Membranen (35,40) und Entkopplungseffekte auf die oxidative Phosphorylierung (15,20,35,40) sind für einen Teil der Toxizität dieser nativen Ionophoren verantwortlich. Valinomycin und Nonactin hemmen an isolierten Fettzellen durch Inhibition der Adenyl-Cyclase die Lipolyse (33).

Im Gegensatz zu Monensin (36,61) und Antamanid (26,61,69), die Natriumionen circa 10^{-1} selektiver als Kaliumionen komplexieren, diskriminieren Valinomycin, Nactine, Enniatine, Beauvericin und Nigericin Natrium- gegenüber Kaliumionen (61).

Nonactin, von *Streptomyces griseus* produziert, ist als Träger-Antibiotikum zur Herstellung NH_4^+ -selektiver Elektroden geeignet (3,58).

Technik und Methodik

Ionenselektive Disk-Elektroden (Abb. 1) sind gravitations-unabhängige elektrochemische Halbzellen, bei denen ein weit-

gehend druckunabhängiger acrylglasummantelter metallischer Festkontakt (z.B. Pt) zur Membranpotentialableitung verwandt wird (55,56).

Die weitgehend indifferente flüssige 15 %-ige PVC-Matrix in Cyclohexanon mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin in Tris(2-äthylhexyl)-phosphat und Diphenyläther als aktiver Komponente wird zu einer ionenselektiven Kunststoffmembran vergossen. Aus Markierungsexperimenten kann geschlossen werden, daß der Ionentransport durch Valinomycin und Makrotetrolide an Modellmembranen nach dem Träger-Staffetten-Mechanismus stattfindet, der möglicherweise an dünnen biologischen Membranen zu einem reinen freien Träger-Mechanismus entartet (71).

An der Phasengrenze von Elektrodenmembran und Elektrolytlösung bildet sich eine Potentialdifferenz aus (55,56). Die Sensoren des ionenselektiven Multimeßsystems (Abb. 1) werden dichtend gegen die Berandung der Durchflußkammern mittels eines Drehmomentschlüssels angezogen. Außer Ionen und Gasen lassen sich elektrochemisch-enzymatische Analysen mit der Multimeßkette durchführen (55,56,57).

Die zur Meßflüssigkeit hin konkave Sensoroberfläche fördert im Zusammenhang mit der strömungsgünstigen Geometrie der Meßkammer die Ausbildung einer stationären über die äußere Helmholzfläche hinausreichenden Schicht der Probenflüssigkeit, wodurch elektrokinetische Potentiale durch die Relativbewegung der diffus ins Lösungsinere reichenden Überschußladungen gegenüber der festen Wand vermieden werden (56).

Nonactin, aus der Gruppe der cyclischen Makrotetrolide (No-, Mo-, Di-, Tri- und Tetranactine), besteht aus vier über Esterbindungen verknüpften chemisch identischen Nonactinsäure-Einheiten. Der 32-gliedrige Ring des Kalium-Nonactin-Komplexes läßt sich mit dem Saum eines Tennisballes vergleichen (12). Acht Sauerstoffatome begrenzen den hydrophilen Innenraum, während die lipophile Außenseite des Moleküls durch Methylsubstituenten sowie Methylengruppen der Tetra-

hydrofuranringe gebildet wird (12); das nicht hydratisierte K^+ -Ion wird von je vier Carbonyl- und Tetrahydrofuran-Sauerstoffatomen 8-fach näherungsweise kubisch ($\sim 2,8 \text{ \AA}$) koordiniert (12). Im Falle einer Na^+ -Komplexierung nähern sich die Carbonylsauerstoffatome dem Metallkation auf eine Distanz von circa $2,8 \text{ \AA}$ (13), beim NH_4^+ -Komplex distanzieren sie sich vom Stickstoffatom auf eine Entfernung von $3,01 - 3,16 \text{ \AA}$ (43), so daß die Wasserstoffatome von NH_4^+ mit den Tetrahydrofuran-Sauerstoffatomen ($\sim 2,0 \pm 0,15 \text{ \AA}$) in besondere Wechselwirkung treten (53). Der Abstand der Tetrahydrofuran-O-Atome bleibt in den K^+ -, Na^+ - und NH_4^+ - (N...O) Komplexen des Nonactins mit circa $2,8 \text{ \AA}$ ungefähr gleich (12,13,43).

Unter Abstreifen seiner Hydrathülle schlüpft das Ammonium-Ion in den von acht Sauerstoffatomen umgrenzten Hohlraum des Nonactins (Abb. 2).

Durch den Komplexierungsvorgang, der in gewisser Hinsicht dem Prinzip der optimalen Hohlraumanpassung folgt, entstehen ligandgetrennte Ionenpaare, wobei das Metallkation in den an der Bindung teilnehmenden Sauerstoffatomen einen Ersatz für seine Hydrathülle (10) findet.

Ringflexibilität, niedrige Aktivierungsbarriere und hohe Ionenaustauschgeschwindigkeit (61) bei nur geringer Transportkonkurrenz durch Na^+ , Ca^{2+} und Mg^{2+} gepaart mit lipophiler Außenseite und hydrophilem (polarem) Hohlraum charakterisieren das Carrier-Antibiotikum Nonactin.

Auf Grund stabiler Gleichgewichts-Galvanispannung, guter reproduzierbarer Herstellung, kleiner Temperaturhysterese und bedienungsfreundlicher Handhabung wurde zur Komplettierung der Meßkette unter den sekundären Bezugshalbelementen die $Ag/AgCl$ -Bezugselektrode ausgewählt. Durch Verwendung einer 3 m KCl -Referenzlösung wird das an der statischen Kontaktzone auftretende Diffusionspotential auf Grund näherungsweise gleicher Überführungszahlen $t_{K^+} = 0,49$ und $t_{Cl^-} = 0,51$ sehr klein gehalten. Die mikrokapilläre Stromschlüsselkon-

taktzone aus verschweißter PTFE-Membran mit mechanisch oder durch fokussierten Laserstrahl erzeugtem Mikroleck beziehungsweise mikrogekerbtem PTFE-Stopfen ist als auswechselbares Stecksystem ausgeführt (55,56).

Resultate

Das elektrochemische Multimeßsystem (55) zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase (Abb. 1) wird mit nachgeschalteter Rollenpumpe betrieben, wobei das Meßgut mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 30-50 $\mu\text{l/min}$ zuerst die selektiven Sensoren und dann nachfolgend die Stromschlüsselkontaktzone mit dem herausdiffundierenden Referenz-Elektrolyten passiert, so daß dadurch bedingte Meßwertverfälschungen nicht in Betracht gezogen zu werden brauchen.

Die theoretische Elektrodensteilheit (Nernst-Faktor) für einwertige Ionen beträgt bei 20 °C 58,165 mV/Aktivitätsdekade. Die hier untersuchte pNH_4 -Disk-Elektrode weist eine Potentialänderung von vorzugsweise > 55,5 mV/Aktivitätsdekade in reinen NH_4Cl -Lösungen auf. Die Elektrode wurde zu Messungen in 10^{-1} - 10^{-7} m NH_4Cl -Lösungen eingesetzt und zeigte im Bereich von 10^{-1} - 10^{-6} m $\text{NH}_4\text{Cl/l}$ nach Delogarithmierung des Meßsignals und unter Berücksichtigung des Aktivitätskoeffizienten lineares Verhalten.

Die Anzeigegeschwindigkeit liegt bei Meßwertveränderungen von einer Aktivitätsdekade im Bereich von wenigen Sekunden. Unter diesen Bedingungen ließ sich eine Meßgenauigkeit von $\pm 0,1$ mV (Analysenfehler $\pm 0,4$ %) erzielen.

Die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt (55,56).

$$E = E' + \frac{2,303}{z_m} \frac{RT}{F} \log a_m$$

E Elektrodenpotential

E' Standardmeßkettenpotential

- S Elektrodensteilheit oder Nernst-Faktor: $-\frac{2,303}{z_m} \frac{RT}{F}$
 R Gaskonstante (8,3144 Joule/Grad Mol)
 T Temperatur in °K
 F Faradaykonstante (96487 Coulomb/Gramm-Äquivalent)
 z_m Ionenladung
 a_m Aktivität des Meßions
 2,303 Umrechnungsfaktor vom natürlichen in den dekadischen Logarithmus

$$\Delta E = (E'_2 - E'_1) + -\frac{2,303}{z_m} \frac{RT}{F} \log \frac{a_{m2} + K_{M-S} \frac{a_{s2}^{z_m/z_s}}{z_m^{z_s}}}{a_{m1} + K_{M-S} \frac{a_{s1}^{z_m/z_s}}{z_m^{z_s}}}$$

ΔE EMK-Differenz

z_m Ionenladung Meßion

z_s Ionenladung Störion

a_{m1} Aktivität Meßion 1

a_{m2} Aktivität Meßion 2

a_{s1} Aktivität Störion 1

a_{s2} Aktivität Störion 2

K_{M-S} Selektivitätsverhältnis Meßion (M)/Störion (S)

Unter der Annahme, daß sich E' konstant verhält, und nach experimenteller Bestimmung der Nernst-Steilheit der ionenselektiven Elektrode kann durch EMK-Messungen in zwei Eichlösungen mit bekannten Ionenaktivitäten - zehnfache Meßionenaktivitätsänderungen bei konstantem Störionengehalt - ΔE ermittelt werden.

Wäßrigen Lösungen von 10^{-3} und 10^{-4} mol $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{l}$ wurden Störionenkonzentrationen von 100 mmol Na^+/l oder Ca^{++} bzw. Mg^{++} als Chlorid zugesetzt. Die Querempfindlichkeit gegenüber Protonen wurde nach gleichem Prinzip bei pH 2,00 ermittelt. Da im Hinblick auf den nur geringen Unterschied hinsichtlich der Ionenradien für K^+ und NH_4^+ eine beschränkte Selektivität zu erwarten ist - der Komplexierungsvorgang folgt in gewisser Weise dem Prinzip der optimalen Hohlraumanpassung - wurde bei zwar gleichem Meßionenpegel eine zehnfach geringere Störionenaktivität (10 mmol K^+/l) gewählt. Unter Berücksichtigung des nicht idealen Verhaltens der verwandten Lösungen - der Aktivitätskoeffizient kann nur bei Ionenstärken

unter 10^{-3} mol/l für einwertige und unter 10^{-4} mol/l für zweiwertige etwa gleich 1 gesetzt werden - wurden Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel berechnet (55,56).

$$- \log \gamma_i = \frac{A z_i^2 J^{0,5}}{1 + B \beta J^{0,5}}$$

A und B Lösungsmittel- und temperaturabhängige Konstanten des Debye-Hückel-Gesetzes

β Von der effektiven Größe des hydratisierten Ions abhängiger Annäherungsabstand

J Ionenstärke

$$J = 0,5 \sum z_i^2 c_i$$

z_i Ionenladung

$$a_i = \gamma_i c_i$$

a_i Ionenaktivität

c_i Ionenkonzentration

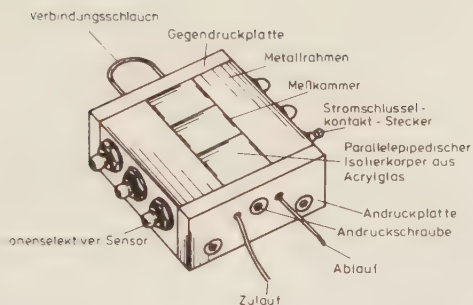
γ_i Aktivitätskoeffizient

Die Selektivitätskonstanten K_{M-S} als quantitative Elektrodenkennzahlen sind in Abb. 3 zusammengestellt.

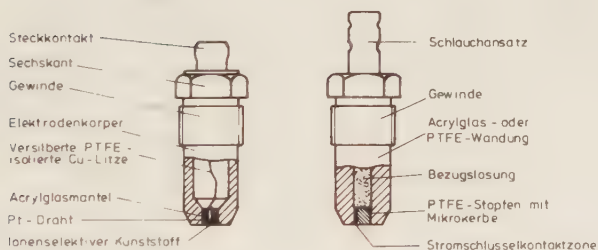
Die ammoniumselektive Disk-Elektrode wird trocken aufbewahrt und ist unproblematisch zu handhaben. Vor Inbetriebnahme wird sie mit 10^{-1} m Meßionenlösung bis zur stabilen Anzeige vorperfundiert. Aus elektrochemischen Gründen sollten die Eichlösungen in ihrer ionalen Zusammensetzung und Ionenstärke den Meßlösungen soweit wie möglich angeglichen sein.

Außer für ionenselektive Messungen in der chemischen Analytik sind Disk-Elektroden mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin als aktiver Komponente zur NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Elektroanalyse insbesondere des Harnstoffes vor allem auch in der Medizin von Bedeutung (57).

Das Projekt wird von der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutischen Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. im Rahmen einer Koordinierten Forschung zur Entwicklung elektrochemischer Sensoren für Physiologie und Medizin gefördert.



Ionenselektives Multimeßsystem



Ionenselektive Disk-Elektrode

Stromschlüsselkontakt-Stecker

Abb. 1
Ionenselektiver Elektroanalysator

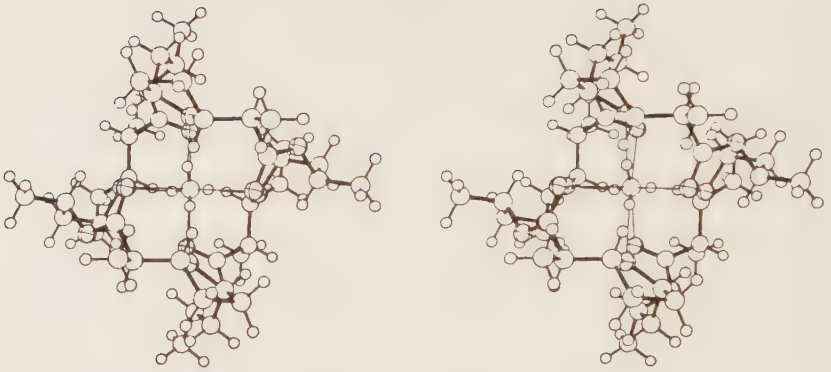
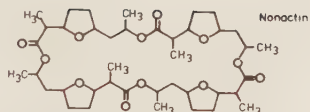
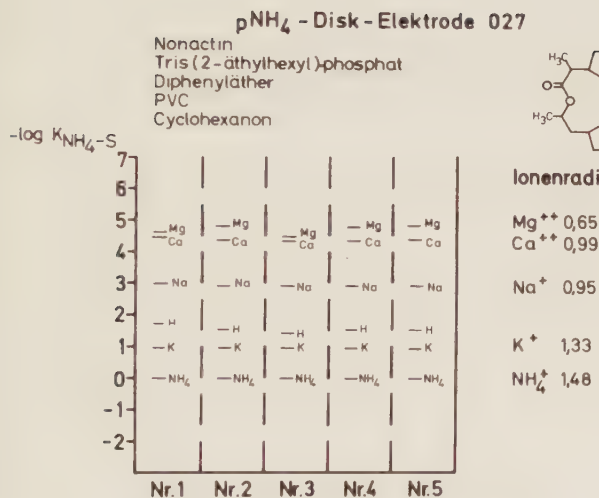


Abb. 2
Stereoskopische Aufnahme eines Modells des NH_4^+ -Nonactin-Komplexes (43)



Ionenradien [Å]

Mg⁺⁺ 0,65

Ca⁺⁺ 0,99

Na⁺ 0,95

K⁺ 1,33

NH₄⁺ 1,48

Abb. 3

Membrankomponenten und Selektivitätskonstanten von pNH₄-Disk-Elektroden mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin

Literaturverzeichnis

1. Agtarap, A., J.W. Chamberlin, M. Pinkerton, L. Steinrauf: The Structure of Monensic Acid, a New Biologically Active Compound. *J. Amer. Chem. Soc.* 89 (1967), 5737.
2. Alleaume, M., D. Hickel: The Crystal Structure of Grisorixin Silver Salt. *Chem. Comm.* (1970), 1422.
3. Ammann, D., R. Bissig, Z. Cimerman, U. Fiedler, M. Güggi, W.E. Morf, M. Oehme, H. Osswald, E. Pretsch, W. Simon: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: Kessler, M., L.C. Clark, D.W. Lübbers, I.A. Silver W. Simon: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 22.
4. Asher, I.M., G.D.J. Phillies, H.E. Stanley: Nonactin and Its Alkali Complexes -- A Raman Spectroscopic Study. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 61 (1974), 1356.
5. Bernabei, D.: Kryptofix[®] 222, 221 und 211, eine Klasse von Komplexbildnern mit ungewöhnlichen Eigenschaften (Kryptatbildner). *Kontakte* (1973)/2, 27.
6. Blount, J.F., J.W. Westley: X-Ray Crystal and Molecular Structure of Antibiotic X-206. *Chem. Comm.* (1971), 927.
7. Cattrall, R.W., S. Tribuzio, H. Freiser: Potassium Ion Responsive Coated Wire Electrode Based on Valinomycin. *Anal. Chem.* 46 (1974), 2223.
8. Carmeliet, E.E., M. Lieberman: Increase of Potassium Flux by Valinomycin in Embryonic Chick Heart. *Pflügers Arch.* 358 (1975), 243.
9. Czerwinski, E.W., L.K. Steinrauf: Structure of the Antibiotic Dianemycin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 45 (1971), 1284.
10. Dietrich, B., J.-M. Lehn, J.-P. Sauvage: Kryptate: makrocyclische Metallkomplexe. *Chemie in unserer Zeit* 7 (1973), 120.
11. Dobler, M.: The Crystal Structure of Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 55 (1972), 1371.
12. Dobler, M., J.D. Dunitz, B.T. Kilbourn: Die Struktur des KNCS-Komplexes von Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 52 (1969), 2573.
13. Dobler, M., R.P. Phizackerley: The Crystal Structure of the NaNCS Complex of Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 57 (1974), 664.
14. Estrada-O., S., S.N. Graven, H.A. Lardy: Potassium Ion-dependent Hydrolysis of Adenosine Triphosphate Induced by Nigericin in Mitochondria. *J. Biol. Chem.* 242 (1967), 2925.
15. Franklin, I.J., G.A. Snow: Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe. Übersetzt und bearbeitet von Goebel, W.. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973).

16. Frant, M.S., J.W. Ross: Potassium Ion Specific Electrode with High Selectivity for Potassium over Sodium. *Science* 167 (1970), 987.
17. Gachon, P., A. Kergomard, H. Veschambre, C. Esteve, T. Staron: Grisorixin, a New Antibiotic Related to Nigericin. *Chem. Comm.* (1970), 1421.
18. Giger, W., W. Simon: Kernresonanz-spektroskopische Untersuchung protonierter Stickstoffverbindungen in Tri-fluoressigsäure. *Helv. Chim. Acta* 53 (1970), 1609.
19. Craven, S.N., H.A. Lardy, S. Estrada-O.: Antibiotics as Tools for Metabolic Studies. VIII. Effect of Nonactin Homologs on Alkali Metal Cation Transport and Rate of Respiration in Mitochondria. *Biochemistry* 6 (1967), 365.
20. Craven, S.N., H.A. Lardy, D. Johnson, A. Rutter: Antibiotics as Tools for Metabolic Studies. V. Effect of Nonactin, Monactin, Dinactin, and Trinactin on Oxidative Phosphorylation and Adenosine Triphosphatase Induction. *Biochemistry* 5 (1966), 1729.
21. Craven, S.N., H.A. Lardy, A. Rutter: Antibiotics as Tools for Metabolic Studies. VI. Damped Oscillatory Swelling of Mitochondria Induced by Nonactin, Monactin, Dinactin, and Trinactin. *Biochemistry* 5 (1966), 1735.
22. Henderson, P.J.F., J.D. McGivan, J.B. Chappell: The Action of Certain Antibiotics on Mitochondrial, Erythrocyte and Artificial Phospholipid Membranes. *Biochem. J.* 111 (1969), 521.
23. Hladky, S.B.: Tests of the Carrier Model for Ion Transport by Nonactin and Trinactin. *Biochim. Biophys. Acta* 375 (1975), 327.
24. Hladky, S.B.: Steady-State Ion Transport by Nonactin and Trinactin. *Biochim. Biophys. Acta* 375 (1975), 350.
25. Hughes, R.C., P.J. Tanner: The Action of Dilute Alkali on Some Bacterial Cell Walls. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 33 (1968), 22.
26. Ivanov, V.T., A.I. Miroshnikov, N.D. Abdullaev, L.B. Senyavina, S.F. Arkhipova, N.N. Uvarova, K.Kh. Khalilulina, V.F. Bystrov, Yu.A. Ovchinnikov: Conformation of the Na⁺ Complex of Antamanide in Solution. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 42 (1971), 654.
27. Johnson, S.M., J. Herrin, Shui Jan Liu, I.C. Paul: Crystal Structure of a Barium Complex of Antibiotic X-537A, Ba(C₃₄H₅₃O₈)₂·H₂O. *Chem. Comm.* (1970), 72.
28. Johnson, S.M., J. Herrin, Shui Jan Liu, I.C. Paul: The Crystal and Molecular Structure of the Barium Salt of an Antibiotic Containing a High Proportion of Oxygen. *J. Amer. Chem. Soc.* 92 (1970), 4428.
29. Johnson, S.M., K.W. Miller: The Effect of Pressure and the Volume of Activation on the Monovalent Cation and Glucose Permeabilities of Liposomes of Varying Composition. *Biochim Biophys. Acta* 375 (1975), 286.
30. Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner

und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1972), 36.

31. Kedem, O., M. Furmanski, E. Loebel, S. Gordon, R. Bloch: New Developments in Specific Membrane Electrodes: Biochemical and Medical Applications of Potassium Measurements and Monitoring. *Israel J. Chem.* 7 (1969), 87p.
32. Kubota, T., S. Matsutani, M. Shiro, H. Koyama: The Structure of Polyetherin A. *Chem. Comm.* (1968), 1541.
33. Kuo, J.F., I.K. Dill: Antilipolytic Action of Valinomycin and Nonactin in Isolated Adipose Cells Through Inhibition of Adenyl Cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 32 (1968), 333.
34. LeBlanc, O.H., W.T. Grubb: Long-Lived Potassium Ion Selective Polymer Membrane Electrode. *Anal. Chem.* 48 (1976), 1658.
35. Lehninger, A.L.: *Biochemie*. Übersetzt von Fischer, K. und Ries, E.. Verlag Chemie, GmbH, Weinheim (1975).
36. Lutz, W.K., P.O. Fröh, W.O. Simon: Microcalorimetric Determination of H^+ , G^+ and S^+ for the Interaction of the Carrier Antibiotics Nigericin and Monensin with Sodium and Potassium Ions. *Helv. Chim. Acta* 54 (1971), 2767.
37. Lutz, W.K., F.K. Winkler, J.D. Dunitz: Crystal Structure of the Antibiotic Monensin Similarities and Differences between Free Acid and Metal Complex. *Helv. Chim. Acta* 54 (1971), 1103.
38. Maier, C.A., I.C. Paul: X-Ray Crystal Structure of a Silver Complex of Antibiotic X-537A; a Structure Enclosing Two Metal Ions. *Chem. Comm.* (1971), 181.
39. Martin, J.R., R.S. Egan, A.W. Goldstein, S.L. Mueller, W. Keller-Schierlein, L.A. Mitscher, R.L. Foltz: 3"-De-O-methyl-2",3"-anhydro-lankamycin, a New Macrolide Antibiotic from *Streptomyces violaceoniger*. *Helv. Chim. Acta* 59 (1976), 1886.
40. Moore, C., B.C. Pressman: Mechanism of Action of Valinomycin on Mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 15 (1964), 562.
41. Moss, S.D., J. Janata, C.C. Johnson: Potassium Ion-Sensitive Field Effect Transistor. *Anal. Chem.* 47 (1975), 2238.
42. Mueller, P., D.O. Rudin: Development of K^+ - Na^+ Discrimination in Experimental Bimolecular Lipid Membranes by Macrocyclic Antibiotics. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 26 (1967), 398.
43. Neupert-Laves, K., M. Dobler: The Crystal Structure of the NH_4NCS Complex of Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 59 (1976), 614.
44. Ohnishi, M., D.W. Urry: Temperature Dependence of Amide Proton Chemical Shifts: The Secondary Structures of Gramicidin S and Valinomycin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 36 (1969), 194.
45. Pedersen, C.J., H.K. Frensdorff: Makrocyclische Polyäther und ihre Komplexe. *Angew. Chem.* 84 (1972), 16.

46. Johnson, C.K., M. Pinkerton, L.K. Steinrauf: Persönliche Mitteilung. In: Franklin, T.J., G.A. Snow: Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe. Übersetzt und bearbeitet von Goebel, W.. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973), 64.
47. Pioda, L.A.R., V. Stankova, W. Simon: Highly Selective Potassium Ion Responsive Liquid-Membrane Electrode. Anal. Lett. 2 (1969), 665.
48. Pioda, L.A.R., H.A. Wachter, R.E. Dohner, W. Simon: Komplexe von Nonactin und Monactin mit Natrium-, Kalium- und Ammonium-Ionen. Helv. Chim. Acta 50 (1967), 1373.
49. Pioda, L.A.R., H.-K. Wipf, W. Simon: Kristalliner Komplex von Kallumrhodanid mit Valinomycin, einem Antibiotikum hoher Kaliumionenselektivität. EMK-Messungen an künstlichen Membranen. Chimia 22 (1968), 189.
50. Pressman, B.C.: Metabolic Function of Phosphohistidine. Biochem. Biophys. Res. Comm. 15 (1964), 556.
51. Pressman, B.C.: Ionophorous antibiotics as models for biological transport. Federation Proceedings 27 (1968), 1283.
52. Prestegard, J.H., S.I. Chan: Proton Magnetic Resonance Studies of the Cation-Binding Properties of Nonactin. II. Comparison of the Sodium Ion, Potassium Ion, and Cesium Ion Complexes. J. Amer. Chem. Soc. 92 (1970), 4440.
53. Pretsch, E., M. Vasák, W. Simon: ¹³C-kernresonanzspektroskopische Untersuchung der Wechselwirkung von Makrotetrolid-Antibiotika mit Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺, NH₄⁺ und Ba²⁺. Helv. Chim. Acta 55 (1972), 1098.
54. Puskin, J.S., T.E. Gunter: Electron Paramagnetic Resonance of Copper Ion and Manganese Ion Complexes with the Ionophore A23187. Biochemistry 14 (1975), 187.
55. Schindler, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase. Biomed. Techn. 22 (1977), 235.
56. Schindler, J.G., W. Riemann: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H.. 1. Aufl.(1977).
57. Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz: Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse von Harnstoff. Teil II: Ein NH₄⁺-selektiv-enzymatisches Durchflußsystem. In Vorbereitung.
58. Scholer, R.P., W. Simon: Antibiotika-Membranelektrode zur selektiven Erfassung von Ammoniumionenaktivitäten. Chimia 24 (1970), 372.
59. Shavit, N., A. San Pietro: K⁺-Dependent Uncoupling of Photophosphorylation by Nigericin. Biochem. Biophys. Res. Comm. 28 (1967), 277.
60. Shemyakin, M.M., Yu.A. Ovchinnikov, V.T. Ivanov, V.K. Antonov, A.M. Shkrob, I.I. Mikhaleva, A.V. Evstratov,

- G.G. Malenkov: The Physicochemical Basis of the Functioning of Biological Membranes: Conformational Specificity of the Interaction of Cyclodepsipeptides with Membranes and of Their Complexation with Alkali Metal Ions. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 29 (1967), 834.
61. Simon, W., W.E. Morf, P.Ch. Meier: Specificity for Alkali and Alkaline Earth Cations of Synthetic and Natural Organic Complexing Agents in Membranes. In: *Structure and Bonding*, ed. Dunitz, J.D., P. Hemmerich, J.A. Ibers, C.K. Jørgensen, J.B. Neilands, D. Reinen, R.J.P. Williams. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973), 113.
62. Simon, W., H.-R. Wuhrmann, M. Vasák, L.A.R. Pioda, R. Dohner, Z. Stefanac: Ionenselektive Sensoren. *Angew. Chem.* 82 (1970), 433.
63. Skulachev, V.P.: Solution of the Problem of Energy Coupling in Terms of Chemiosmotic Theory. *Bioenergetics* 3 (1972), 25.
64. Smith, M.D., M.A. Genshaw, J. Greyson: Miniature Solid State Potassium Electrode for Serum Analysis. *Anal. Chem.* 45 (1973), 1782.
65. Steinrauf, L.K., E.W. Czerwinski, M. Pinkerton: Comparison of the Monovalent Cation Complexes of Monensin, Nigericin, and Dianemycin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 45 (1971), 1279.
66. Steinrauf, L.K., M. Pinkerton, J.W. Chamberlin: The Structure of Nigericin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 33 (1968), 29.
67. Waley, S.G.: Naturally Occurring Peptides. In: *Advances in Protein Chemistry*, ed. Anfinsen, C.B., M.L. Anson, J.T. Edsall, F.M. Richards. Academic Press, New York and London 21 (1966), 1.
68. Westley, J.W., R.H. Evans, T. Williams, A. Stempel: Structure of Antibiotic X-537A. *Chem. Comm.* (1970), 71.
69. Wieland, Th., H. Faulstich, W. Burgermeister, W. Otting, W. Möhle, M.M. Shemyakin, Yu.A. Ovchinnikov, V.T. Ivanov, G.G. Malenkov: Affinity of Antamanide for Sodium Ions. *FEBS Letters* 9 (1970), 89.
70. Wieland, Th., G. Lüben, H. Ottenheim, J. Faesel, J.X. De Vries, W. Konz, A. Prox, J. Schmid: Antamanid. Seine Entdeckung, Isolierung, Strukturauflklärung und Synthese. *Angew. Chem.* 80 (1968), 209.
71. Wipf, H.-K., A. Olivier, W. Simon: Mechanismus und Selektivität des Alkali-Ionentransportes in Modell-Membranen in Gegenwart des Antibioticums Valinomycin. *Helv. Chim. Acta* 53 (1970), 1605.
72. Wipf, H.-K., L.A.R. Pioda, Z. Stefanac, W. Simon: Komplexe von Enniatinen und anderen Antibiotica mit Alkalimetall-Ionen. *Helv. Chim. Acta* 51 (1968), 377.
73. Wörner, P., R. Brossmer: Effect on Human Platelets of Ionophores for Divalent Cations. *Naturwissenschaften* 61 (1974), 508.

Anschrift der Verfasser

Dr. Dr. J. G. Schindler

R. G. Schindler

Prof. Dr. O. Aziz

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin

Institut für Angewandte Physiologie

Philipps-Universität

Lahnberge

D-3550 Marburg/Lahn

Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse
von Harnstoff

Teil II: Ein NH_4^+ -selektiv-enzymatisches Durchflußsystem

Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin
Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

Zusammenfassung

Es wird ein Durchflußsystem zur NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Harnstoffbestimmung beschrieben, bei der mit löslicher Urease schwimmend eine Harnstoffspaltung erfolgt und die NH_4^+ -Freisetzung sekundär mit einer ammoniumselektiven Disk-Elektrode erfaßt wird. Als aktive Komponente für die Elektrodenmembran wurde das Carrier-Antibiotikum Nonactin in eine PVC-Matrix inkorporiert.

A flow-through system for the measurement of urea concentrations is described using soluble urease and consecutive determination of liberated ammonium ions by a selective disc-electrode. The active component of the electrode membrane was the carrier-antibiotic nonactin which was incorporated in a PVC matrix.

Einleitung

Die elektrochemisch-enzymatische Analytik basiert auf der Messung von Ionen (15,16,23,26) oder Gasen (2,16,23,26,30) nach enzymatischem Substratumsatz. Da sich derartige Meßsysteme in kompakter Bauform ausbilden lassen (23,26,27), haben sie außer für das klinisch-chemische Labor eine besondere Bedeutung für kontinuierliche elektrochemische Direktmessungen am Patienten (24). Es erscheint möglich, derartige Analyseneinrichtungen zusammen mit ionenselektiven Sensoren in einen geschlossenen Regelkreis zwischen Patient und Therapiegerät zur gesteuerten Therapie (Infusion, Medikamentenapplikation, Beatmung) zu integrieren (26).

Bisher wurden derartige Meßeinrichtungen schon zur fortlaufenden elektrochemischen Hämoanalyse des Menschen von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose (24) in Analogie zu der bereits eingeführten Kontrolle anderer wichtiger physiologischer Meßdaten wie EKG, Puls, Blutdruck, Atmung und Temperatur eingesetzt. Im folgenden wird daher ein einfaches Verfahren zur NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Durchflußmessung von Harnstoff beschrieben.

Technik und Methodik

Das ionenselektiv-enzymatische Meßsystem zur kontinuierlichen potentiometrischen Harnstoffanalyse wird durch einen Metallrahmen mit Buchsen für Sensoren, Stromschlüsselkontakt-Stecker und Enzymkontakt-Stecker gegenüber elektrostatischen Aufladungen abgeschirmt. Das Kanalsystem besteht aus wannenförmig abgeflachten Meßkammern ($1\ \mu\text{l}$) in strömungsgünstiger Geometrie. Die selektiven Membranen der Sensoren bilden das Dach der Durchflußkammern und werden über radiale Kanäle in parallelepipedischen Isolierkörpern angeströmt (23,25).

Die Sensoren, ionenselektive Disk-Elektroden (23,25), benutzen zur Membranpotentialableitung vom ionenselektiven Kunststoff einen acrylglasummantelten Pt-Stirnflächenkontakt oder andere geeignete leitfähige Metalle mit geringem Drift-

potential als weitgehend druckunabhängigen Festkontakt. Elektroden und Stromschlüssel- sowie Enzymkontakt-Stecker werden unter Zuhilfenahme eines Drehmomentschlüssels dichtend gegen die Berandung der Meßkammern angezogen.

Die geringen Unterschiede in den Ionenradien von NH_4^+ ($r_{\text{Ion}} 1,48 \text{ \AA}$) und K^+ ($r_{\text{Ion}} 1,33 \text{ \AA}$) bedingen die hohe Querempfindlichkeit von NH_4^+ -selektiven Membranen mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin gegenüber K^+ (16,28); umgekehrt weisen kaliumselektive Elektroden mit dem Träger-Antibiotikum Valinomycin eine geringe Selektivität gegenüber NH_4^+ auf (16,23,26). Dies erklärt der Komplexierungsvorgang, der in gewisser Hinsicht dem Prinzip der optimalen Hohlraumanpassung folgt, wobei das Metallkation in den an der Bindung teilnehmenden Sauerstoffatomen einen Ersatz für seine Hydrathülle findet. Andererseits besteht daher nur eine geringe Transportkonkurrenz als Funktion des Ionenradius gegenüber Na^+ ($r_{\text{Ion}} 0,95 \text{ \AA}$), Ca^{++} ($r_{\text{Ion}} 0,99 \text{ \AA}$) und Mg^{++} ($r_{\text{Ion}} 0,65 \text{ \AA}$).

Die Transportkonkurrenz für NH_4^+ und K^+ der Carrier-Antibiotika Nonactin und Valinomycin ist beim Aufbau eines NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Harnstoffmeßsystems mit elektroanalytischer K^+ -Korrektur zu berücksichtigen. Der nach Enzymkontakt unter konstantem Zupumpen löslicher Urease erfolgenden NH_4^+ -Messung kann wegen der geringen Diskriminierung von Kalium-Ionen zu Korrekturzwecken ein Sensor mit Valinomycin als aktiver Komponente vorgeschaltet werden (Abb. 1), der seinerseits auf Grund des geringen NH_4^+ -Pegels bei physiologischen Messungen nur wenig gestört wird. Um aber andererseits die verhältnismäßig hohe Kaliumempfindlichkeit von Nonactin in der Elektrodenmembran des NH_4^+ -Sensors ($K_{\text{NH}_4^+ - \text{K}} \sim 10^{-1}$) ausreichend zu kompensieren, empfiehlt es sich gegenwärtig, die höhere enzymatische Aktivität löslicher Urease dem immobilisierten Enzym vorzuziehen. Wenn dabei der NH_4^+ -Pegel selbst bei einer Harnstoffkonzentration von 1,7 mmol/l auf Werte von 3,2-3,4 mmol/l - näherungsweise 100 %-iger Substratumsatz - bei einer Enzymkontaktzeit von 15 min angehoben werden kann, bedarf es keiner kaliumselektiven Korrekturmessung (Abb. 2).

Resultate

Die Selektivitätskonstanten von pNH_4^+ -Disk-Elektroden als quantitative Sensorkennzahlen wurden für die physiologisch wichtigen Störionen H^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{++} und Mg^{++} nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmt (28).

Die NH_4^+ -selektiv-enzymatische Harnstoffmessung erfolgte nach schwimmend durchgeführter Substratspaltung mit tris-gepuffelter (pH 7,40) löslicher Urease (Boehringer Mannheim/Biochemica-Werk Tutzing) in einem spiralförmigen Enzym-Reaktor zeit- (15 min) und temperaturkonstant (20°C). Im Enzym-Reaktor läßt sich luftblasengetrennt eine Vielzahl von Proben unterbringen. Da größere Harnstoffschwankungen kurzfristiger kaum zu erwarten sind, erscheint das Verfahren auch für kontinuierliche Messungen beispielsweise im Rahmen einer Hämodialyse geeignet. Die langen Enzym-Reaktorzeiten wurden gewählt, um durch einen näherungsweise 100 %-igen Substratumsatz einen Kaliumeinfluß auch bei niedrigem Harnstoffpegel weitgehend zu unterdrücken, so daß auf elektroanalytische Korrekturmessungen mit einem vorgeschalteten kaliumselektiven Sensor verzichtet werden kann (Abb. 2 und 3).

Zur Abschätzung des Analysenfehlers auf Grund geringer NH_4^+/K^+ -Diskriminierung wurden Modell-Versuche mit einem vorgegebenen Störionenspiegel von 10 mmol K/l bei Harnstoffkonzentrationen zwischen 1,7 und 16,7 mmol/l entsprechend 10 und 100 mg% durchgeführt (Abb. 3). Der mögliche Meßfehler liegt selbst im unteren Analysenbereich in den Toleranzgrenzen (Abb. 4) handelsüblicher Kontrollserien (DADE): LAB-TROL^(R) (5,2 - 5,8 mmol Harnstoff/l), MONI-TROL I^(R) (5,3 - 5,8 mmol Harnstoff/l), MONI-TROL II^(R) (11,8 - 12,2 mmol Harnstoff/l) und PATHO-TROL^(R) (17,8 - 18,1 mmol Harnstoff/l).

Im Hinblick auf die Einbeziehung der potentiometrischen Harnstoffmessung in die kontinuierliche elektrochemische Hämoanalyse in Analogie zu den bereits durchgeführten

patientendirekten Messungen für Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose (24) wurden in vitro-Messungen nach dem Prinzip der Zwischenträgeranalyse (Dialyse) durchgeführt, die in guter Übereinstimmung mit Harnstoffmessungen im Serum stehen (Abb. 4).

Diskussion

Neben der O_2 -sensitiv-enzymatischen β -D-Glucosemessung (2,16, 20,23,24,26,27,30) ist die NH_4 -selektiv-enzymatische Bestimmung von Harnstoff ein Paradebeispiel in der enzymatischen Elektroanalytik.

Der Nachweis für die Praktikabilität der potentiometrischen Harnstoffmessung läßt sich sehr einfach durch eine stationäre Versuchsanordnung erbringen, indem das Enzym Urease einer thermostatisierten, gerührten Substratlösung zugesetzt und aus der dann meßion-induzierten Potentialänderung auf die Substratkonzentration geschlossen wird (15). In der Weiterentwicklung zur Harnstoff-Elektrode wurde eine NH_4^+ -sensitive beziehungsweise auf Grund unzureichender Querempfindlichkeit besser als kationenselektiv zu bezeichnende Glasmembranelektrode mit in einer photopolymerisierten Acrylamidgel-Matrix immobilisierten Urease überzogen (5,6,8). Aus Stabilitätsgründen und auch unter dem Aspekt einer Enzymverarmung durch Auswascheffekte kann zusätzlich eine Gelfixation mit Nylonnetz (18) oder Cellophanfolie (7,8) erfolgen. Für Direktmessungen von Harnstoff im Serum oder verdünnten Urin ist die zusätzliche Verwendung einer unbehandelten Kationen-Vergleichselektrode in einem Ionenaustausch-System erforderlich (4). Eine verbesserte Harnstoffelektrode gestattet unter Ersatz der kationenselektiven Glasmembran durch eine Silikonmimembran mit inkorporiertem Nonactin bei bekanntem Kaliumpegel eine genaue Messung in biologischen Flüssigkeiten (9,10). Eine andere Möglichkeit sieht vor, CO_2 - (11,29) beziehungsweise NH_3 -Sensoren (1,13,17,22) als Detektoren mit den Varianten einer Sandwich-Bauweise (29) oder Luftspalt-Elektrode (12,14) zu verwenden.

Die Elektroanalyse mit immobilisierten Enzymen stellt gegenüber dem Einsatz löslicher Enzyme die wirtschaftlichere Alternative dar (3,19,20). Da aber die Immobilisierung verschiedener diesbezüglich interessanter Enzyme Schwierigkeiten zu bereiten scheint, sind Zumischverfahren mit schwimmendem Substratumsatz bei zeitkonstanter Ionen- oder Gasmessung eine Alternative auch für Analysenautomaten. Eine Auftrennung in biochemische Reaktionsstrecke und Sensor (20,27) ist vom bautechnischen Gesichtspunkt im Hinblick auf elektrochemische Multimeßsysteme eine praktikable Lösung. Gegenüber mit an Schlauchinnenwandungen (3,19) oder auf Rührsteinoberflächen (12) besetzten Enzymen bietet das schotterartig aufgebaute (20) Schichtbettverfahren (Enzympatrone) den größeren Oberflächenkontakt.

Bleibt man bei der NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Potentiometrie, so dürften sich auch andere Substrate wie Aminosäuren unter NH_4^+ -Freisetzung (16,21) nach dem hier vorgestellten, elektroanalytischen Verfahren messen lassen.

Das Projekt wird durch die Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. im Rahmen einer Koordinierten Forschung zur Entwicklung elektrochemischer Sensoren für Physiologie und Medizin gefördert.

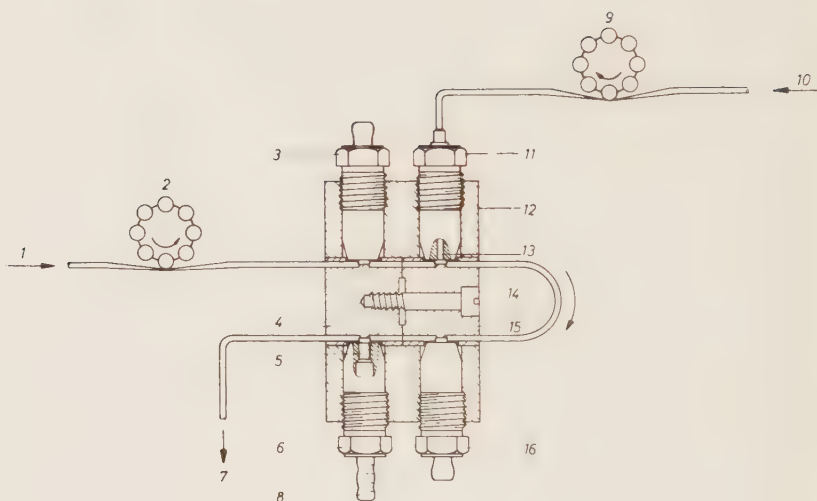


Abb. 1

Ionenselektiv-enzymatisches Durchflußsystem mit elektro-analytischer Korrekturmessung

- 1 Meßlösung
- 2 Pumpe I
- 3 Ionenselektiver Sensor I (Korrektor)
- 4 Parallelepipedischer Isolierkörper I
- 5 Stromschlüsselkontaktzone
- 6 Stromschlüsselkontaktstecker
- 7 Abfluß
- 8 Anschlußstück für die Bezugslösung
- 9 Pumpe II
- 10 Enzymlösung
- 11 Enzymlösungkontakt-Stecker
- 12 Metallrahmen
- 13 Enzymlösungkontaktzone
- 14 Spannschraube
- 15 Parallelepipedischer Isolierkörper II
- 16 Ionenselektiver Sensor II (Detektor)
- ↩ Enzym-Reaktor

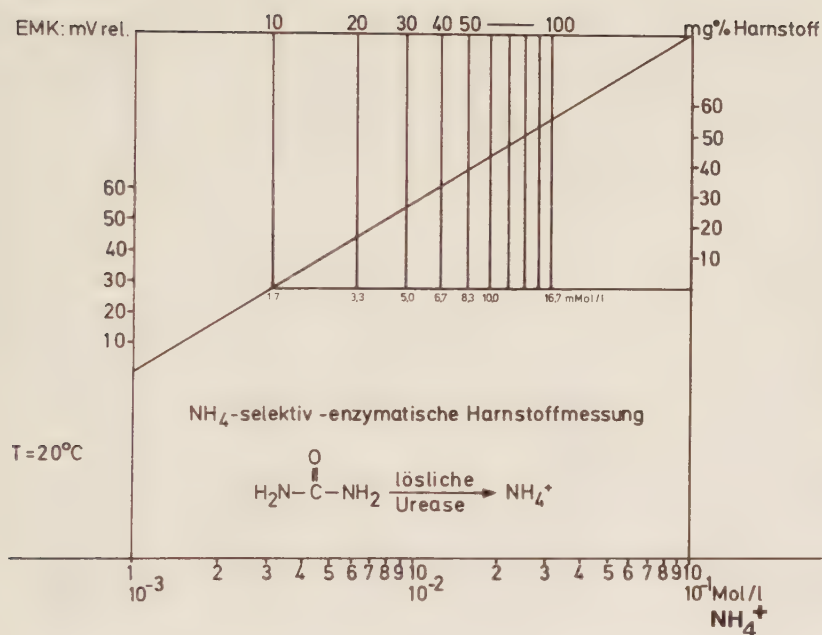


Abb. 2

Eichdiagramm zur NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Elektroanalyse von Harnstoff mit löslicher Urease (Enzymkontaktzeit 15 min.)

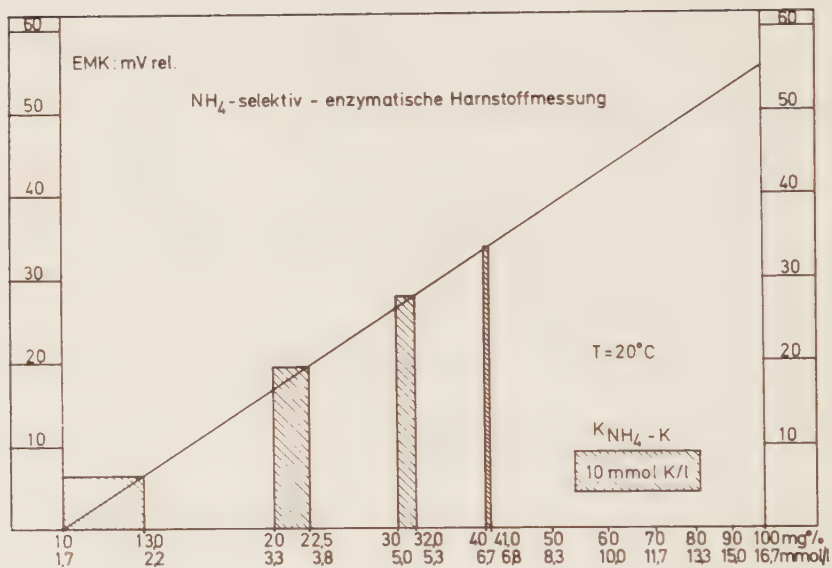


Abb. 3
 $\text{K}_{\text{Harnstoff-K}}$

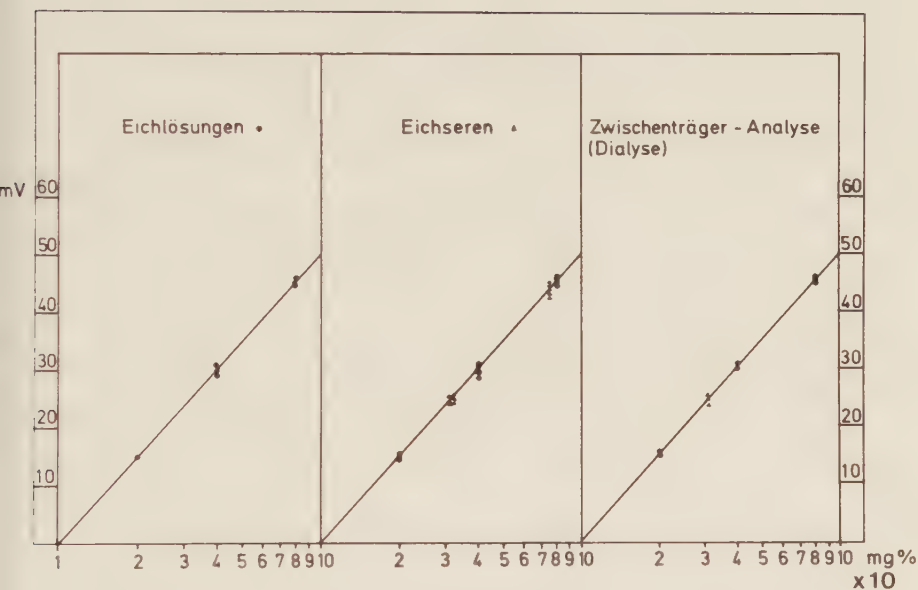


Abb. 4
Potentiometrische Harnstoff-Durchflußmessungen von Eichlösungen, Kontrollsera und nach dem Prinzip der Zwischenträger-Analyse

Literaturverzeichnis

1. Anfält, T., A. Graneli, D. Jagner: A Urea Electrode Based on the Ammonia Probe. Anal. Lett. 6 (1973), 969.
2. Clark, L.C., G. Sachs: Bioelectrodes for Tissue Metabolism. In: Feder, W., E.M.Weyer, M. Krauss, A.G. La Mirande: Bioelectrodes. Ann. N. Y. Acad. Sci. 148 (1968), 133.
3. Filippusson, H., W.E. Hornby, A. McDonald: The Use of Immobilised Derivatives of Urease and Urate Oxidase in Automated Analysis. FEBS Letters 20 (1972), 291.
4. Guilbault, G.G., E. Hrabánková: Determination of Urea in Blood and Urine with a Urea-Sensitive Electrode. Anal. Chim. Acta 52 (1970), 287.
5. Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: A Urea-Specific Enzyme Electrode. J. Amer. Chem. Soc. 91 (1969), 2164.
6. Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: An Electrode for Rapid, Continuous Determination of Urea in Blood Fluids. Chem. Eng. News 47 (1969), 35.
7. Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: An Improved Urea Specific Enzyme Electrode. Anal. Lett. 2 (1969), 283.
8. Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: An Enzyme Electrode for the Substrate Urea. J. Amer. Chem. Soc. 92 (1970), 2533.
9. Guilbault, G.G., Geza Nagy: Improved Urea Electrode. Anal. Chem. 45 (1973), 417.
10. Guilbault, G.G., Geza Nagy, S.S. Kuan: An Improved Electrode for the Assay of Urea in Blood. Anal. Chim. Acta 67 (1973), 195.
11. Guilbault, G.G., F.R. Shu: Enzyme Electrodes Based on the Use of a Carbon Dioxide Sensor. Urea and L-Tyrosine Electrodes. Anal. Chem. 44 (1972), 2161.
12. Guilbault, G.G., W. Stokbro: The Immobilized Enzyme Stirrer. Part I. A Specific Electrode for Urea. Anal. Chim. Acta 76 (1975), 237.
13. Guilbault, G.G., Mads Tarp: A Specific Enzyme Electrode for Urea. Anal. Chim. Acta 73 (1974), 355.
14. Hansen, E.H., J. Ružička: Enzymatic Analysis by Means of the Air-Gap Electrode Determination of Urea in Blood. Anal. Chim. Acta 72 (1974), 353.
15. Katz, S.A., G.A. Rechnitz: Direct Potentiometric Determination of Urea after Urease Hydrolysis. Z. analyt. Chem. 196 (1963), 248.
16. Lakshminarayanaiah, N.: Membrane Electrodes. Academic Press, New York, San Francisco, London (1976), 335.
17. Lienado, R.A., G.A. Rechnitz: Automated Serum Urea Determination Using Membrane Electrodes. Anal. Chem. 46 (1974), 1109.
18. Montalvo, J., G.G. Guilbault: Sensitized Cation Selective

- Electrode. Anal. Chem. 41 (1969), 1897.
19. Morris, D.L., J. Campbell, W.E. Hornby: A Chemistry for the Immobilization of Enzymes on Nylon. The Preparation of Nylon-Tube-Supported Hexokinase and Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase and the Use of the Co-Immobilized Enzymes in the Automated Determination of Glucose. Biochem. J. 147 (1975), 593.
 20. Nelboeck, M., D. Jaworek: Immobilisierte Enzyme und Prinzipien für ihre Anwendung bei analytischen und präparativen Verfahren. Chimia 29 (1975), 109.
 21. Neubecker, T.A., G.A. Rechnitz: Arginine Determination with Ion-Selective Membrane Electrodes. Anal. Lett. 5 (1972), 653.
 22. Rogers, D.S., K.H. Pool: Analysis of Urea Nitrogen in the Presence of Ammonia Using an Ammonia Gas Sensitive Electrode. Anal. Lett. 6 (1973), 801.
 23. Schindler, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase. Biomed. Techn. 22 (1977), 235.
 24. Schindler, J.G., R. Dennhardt, W. Simon: Kontinuierliche ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessung am Menschen. Hämoanalyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose. Chimia 31 (1977), 404.
 25. Schindler, J.G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Techn. 20 (1975), 75.
 26. Schindler, J.G., W. Riemann: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H., 1. Aufl. (1977).
 27. Schindler, J.G., W. Riemann, D. Sailer, G. Berg, W. Schäl: Ein Durchflußmeßsystem zur O_2 -sensitiv-enzymatischen Glucose-Analyse. J. Clin. Chem. ²Clin. Biochem., im Druck.
 28. Schindler, J.G., R.G. Schindler, O. Aziz: Verfahren zur kontinuierlichen enzymatischen Elektroanalyse von Harnstoff. Teil I: Ammoniumselektive Disk-Elektrode mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., im Druck.
 29. Tran-Minh, Canh, G. Broun: Construction and Study of Electrodes Using Cross-Linked Enzymes. Anal. Chem. 47 (1975), 1359.
 30. Updike, S.J., G.P. Hicks: The Enzyme Electrode. Nature 214 (1967), 986.

Anschrift der Verfasser

Dr. Dr. J. G. Schindler

R. G. Schindler

Prof. Dr. O. Aziz

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin

Institut für Angewandte Physiologie

Philipps-Universität

Lahnberge

D-3550 Marburg/Lahn

- [3] Kratky, O., H. Leopold, H. Stabinger: The determination of the partial specific volume of proteins by the mechanical oscillator technique. In: Hirs, C. H. W., S. N. Timasheff (Eds.): *Methods in Enzymology*, Vol. XXVII, Part D. Academic Press, New York-London 1973, 98—110
- [4] Kratky, O., H. Leopold, H. Stabinger: Dichtemesung an Flüssigkeiten und Gasen auf 10^{-6} g/cm³ bei 0,6 cm³ Präparatvolumen. *Z. angew. Physik* 27 (1969), 273—277
- [5] Kuchmeister, H.: *Klinische Funktionsdiagnostik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1956
- [6] Sarre, H.: *Nierenkrankheiten*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958
- [7] Tilz, G. F., H. Leopold: Einführung eines neuen digitalen Flüssigkeitsdichtemeßgerätes in die klinische Diagnostik. *Wiener medizinische Wochenschrift* 84 (1972), 697—699

369

Address:

Hans Leopold
Institut für Physikalische Chemie
der Universität Graz
Heinrichstraße 28
A-8010 Graz

Rainer Jelinek
Institut für Röntgenfeinstruktur-
forschung der Österreichischen
Akademie der Wissenschaften
und des Forschungszentrums Graz
Steyrergasse 17
A-8010 Graz

Gernot Peter Tilz
Universitätsklinik für Innere Medizin
Auenbruggerplatz 11
A-8010 Graz

Biomed. Techn.
22 (1977), S. 235—244

Multi-meßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase

J. G. Schindler

Multiple Measurement System for the Electrochemical Analysis of Flowing Liquids and Gases

Es wird ein gravitationsunabhängiges Multi-meßsystem zur reagentienlosen Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase vorgeschlagen. Sensoren und Stromschlüsselkontaktzone sind austauschbar. Die Meßanordnung ist im Baukastensystem konzipiert. Als aktive Phasen für ionenselektive Disk-Elektroden werden Träger-Antibiotika, synthetische neutrale Carrier und elektrisch geladene Liganden aufgeführt. Die gas sensitiven Elektroden sind durch eine leckstromsicher aufgeschweißte PTFE-Membran wartungsfreundlich. Einsatzmöglichkeiten zur ionenselektiv- und gas-sensitiv-enzymatischen Analyse werden beschrieben.

A gravity independent multiple analyser for the continuous analysis of flowing liquids and gases without the use of reagents is proposed. Sensors and reference junction are exchangeable, the total construction being organized as a building block system. Active phases for ion-selective disc-electrodes such as carrier antibiotics, synthetic neutral carriers, and electrically charged ligands are discussed. Maintenance of the gas-sensitive sensors is considerably improved through the use of leak-current proof welded PTFE-membranes. Possible ranges of application including ion-selective and gas-sensitive enzymatic analysis are described.

Konstruktion des Multi-meßsystems

Es wird ein Multi-meßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase vorgeschlagen, das eine Vielzahl verschiedener Sensoren aufweist.

Die in Reihe geschalteten Meßfühler grenzen aneinander von dem Strömungsmittel durchflossene Meßkammern (Bild 1); jede von ihnen ist in strömungsgünstiger Geometrie als wannenförmig abgeflachte Vertiefung an der Oberfläche eines

parallelepipedischen Isolierkörpers (Bild 2) ausgebildet und mit radialen Zu- und Abflußkanälen versehen, wobei mit flüssigkeits- und gasdichten prominenten Flächen die Kontinuität hergestellt und der erforderliche Anpreßdruck mittels Spannschraube oder -feder erzeugt wird.

Der Metallrahmen übernimmt neben der Funktion einer richtigen räumlichen Zuordnung der Meßstellenplätze (Bild 2) Abschirmungsaufgaben im Sinne eines Faraday-Käfigs gegenüber elektrostatischen Aufladungen; Boden- und abnehmbare Deck-

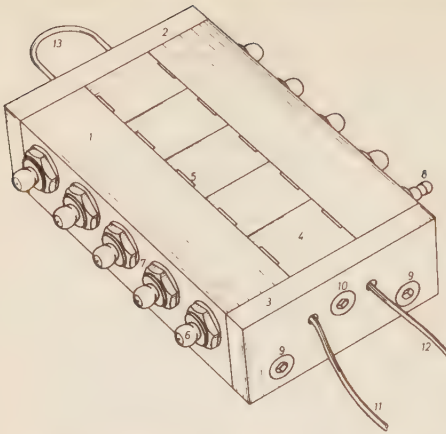


Bild 1. Elektrochemisches Multimeßsystem zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase: Außenansicht

- 1 Metallrahmen (76 mm × 42 mm × 20 mm)
- 2 Gegendruckplatte
- 3 Andruckplatte
- 4 Parallelepipedischer Isolierkörper aus Acrylglas
- 5 Meßkammer
- 6 Steckkontakt eines Sensors
- 7 Sechskant (SW 8) für Drehmomentschlüssel
- 8 Stromschlüsselkontakt-Stecker
- 9 Befestigungsschrauben
- 10 Andruckschraube
- 11 Zulauf
- 12 Abfluß
- 13 Verbindungsschlauch

platte zur Sichtkontrolle ergänzen diese Eigenschaft. Der Metallrahmen ist mit Buchsen zum Einsetzen der Sensoren sowie mit Zu- und Ableitungskanälen für das Strömungsmittel versehen (Bild 2).

Die beiden Meßkammerreihen können durch einen Verbindungsschlauch hintereinandergeschaltet, aber auch getrennt und unabhängig verwendet beziehungsweise zwecks Durchführung von Differenzmessungen unter schneller hydromechanischer Durchmischung von Meß- und Bezugslösung parallelgeschaltet werden.

Das Meßsystem ermöglicht eine individuelle Anpassung nach dem Baukastenprinzip an spezielle Anforderungen.

Mittels Drehmomentschlüssel wird die Stirnfläche des Elektrodenkörpers ionenselektiver, gassensitiver und elektrochemisch-enzymatischer Sensoren sowie die des Stromschlüsselkontakt-Steckers (Bild 3 c) dichtend gegen die Berandung der Durchflußkammer gepreßt. Anstelle eines elektrochemischen kann ein Thermo-Meßfühler in entsprechend adaptierter Bauform in das System eingeführt oder der gesamte Meßplatz zur Vermeidung einer Isothermenschnittpunktseichnung thermostatisiert werden. Aus der Vielzahl der Sensortypen wurden zwei charakteristische in Bild 3 dargestellt.

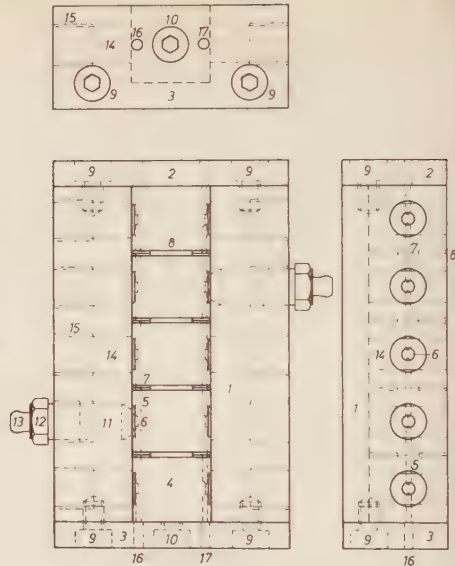


Bild 2. Elektrochemisches Multimeßsystem zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase: Querschnitte

- 1 Metallrahmen
- 2 Gegendruckplatte
- 3 Andruckplatte
- 4 Parallelepipedischer Isolierkörper aus Acrylglas
- 5 Radiale Zu- und Abflußkanäle der Meßkammer
- 6 Wannenförmig abgeflachte Meßkammer
- 7 Dichtflächen
- 8 Hohlraum
- 9 Befestigungsschrauben
- 10 Andruckschraube
- 11 Elektrochemischer Sensor
- 12 Sechskant (SW 8)
- 13 Steckkontakt
- 14 Buchse $\varnothing 7$
- 15 Gewinde M 8 × 0,75
- 16 Zufluß
- 17 Ablauf

Ionenselektive Disk-Elektroden

Ionenselektive Disk-Elektroden (Bild 3 a) sind gravitationsunabhängige elektrochemische Halbzellen, bei denen scheibenförmige ionenselektive Kunststoffe mit konkaver Oberflächengestaltung zur Vermeidung elektrokinetischer Potentiale aus polymerer Matrix mit elektrisch geladenen oder neutralen Liganden einerseits mit acrylglasummantelten Pt-Draht-Stirnflächen mit geringem Driftpotential und andererseits mit der Meßflüssigkeit Kontakt haben, so daß sich an der Phasengrenze von Elektrodenmembran und Elektrolytlösung eine Potentialdifferenz ausbilden kann [72, 73, 74, 75, 76, 79]. Der Acrylglasumantel dient der Retention der ionenselektiven Kunststoffe und sichert den metallischen Ableitkontakt. Durch eine Inkorporierung der Liganden in die PVC-Matrix wird eine monatelange Lebensdauer erreicht. Vorübergehend angezeigte

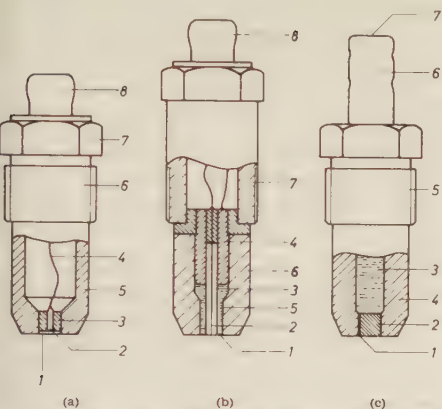


Bild 3. Sensoren und Stromschlüsselkontakt-Stecker (c) des Multimeßsystems zur elektrochemischen Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase; Ionenselektive (a) und O₂-sensitive Elektroden

(a)	(b)	(c)
1 Ionenselektiver Kunststoff	1 PTFE-Membran	1 Stromschlüsselkontaktzone
2 Pt-Draht	2 Pt-Draht	2 PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe
3 Acrylglas-Mantel	3 Glasmantel	3 Bezugslösung
4 Versilberte, PTFE-isolierte Cu-Flitze	4 Referenzelektrode	4 Acrylglas- oder PTFE-Wandung
5 Elektrodenkörper	5 Innenlösung	5 Gewinde
6 Gewinde	6 Elektrodenkörper	6 Verbindungsstück
7 Sechskant	7 Gewinde	7 Lumen
8 Steckkontakt	8 Steckkontakt	

Änderungen im Störionenpegel sind bei Durchflußmessungen mit ionenselektiven Multimeßsystemen leicht erkennbar [76].

Quantitative Elektrodenkennzahlen

Nach der Modellvorstellung der Debye-Hückel-Theorie [1, 46, 91] kann der Aktivitätskoeffizient für verdünnte wäßrige Elektrolytlösungen unter Verwendung der Kiellandschen Formel [44] näherungsweise errechnet werden [53].

$$a_i = \gamma_i c_i$$

$$J = 0,5 \sum z_i^2 c_i$$

$$-\log \gamma_i = \frac{A z_i^2 J^{0,5}}{1 + B \beta J^{0,5}}$$

$$a_i = \text{Ionenaktivität}$$

$$\gamma_i = \text{Aktivitätskoeffizient}$$

$$c_i = \text{Ionenkonzentration}$$

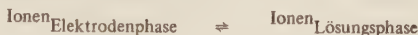
$$J = \text{Ionenstärke}$$

$$z_i = \text{Ionenladung}$$

$$\beta = \text{von der effektiven Größe des hydratisierten Ions abhängiger Annäherungsabstand}$$

$$A \text{ und } B = \text{Lösungsmittel- und temperaturabhängige Konstanten des Debye-Hückel-Gesetzes}$$

Der Aktivitätskoeffizient kann nur bei Ionenstärken unter 10⁻³ Mol/l für einwertige und 10⁻⁴ Mol/l für zweiwertige Ionen etwa gleich 1 gesetzt werden. Die Nernst-Gleichung gilt für elektrochemische Gleichgewichtszustände:



$$E = E' \pm \frac{2,303 RT}{z_i F} \log a_i$$

$$E = \text{Elektrodenpotential}$$

$$E' = \text{Standardmeßkettenpotential}$$

$$S = \text{Elektrodensteilheit oder Nernst-Faktor}$$

$$\frac{2,303 RT}{z_i F}$$

$$R = \text{Gaskonstante (8,3144 Joule/Grad Mol)}$$

$$T = \text{Temperatur in } ^\circ\text{K}$$

$$F = \text{Faradaykonstante (96487 Coulomb/Gramm-Äquivalent)}$$

$$z_i = \text{Ionenladung}$$

$$a_i = \text{Aktivität des Meßions}$$

$$2,303 = \text{Umrechnungsfaktor vom natürlichen in den dekadischen Logarithmus}$$

Experimentell läßt sich das Selektivitätsverhältnis einer ionenselektiven Elektrode durch Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität bestimmen [12].

$$\Delta E = (E'_2 - E'_1) + \frac{2,303 RT}{z_m F} \log \frac{a_{m2} + K_{M,S} a_{s2}^{z_m/z_s}}{a_{m1} + K_{M,S} a_{s1}^{z_m/z_s}}$$

$$\Delta E = \text{EMK-Differenz}$$

$$z_m = \text{Ionenladung}_{\text{Meßion}}$$

$$z_s = \text{Ionenladung}_{\text{Störion}}$$

$$a_{m1} = \text{Ionenaktivität}_{\text{Meßion 1}}$$

$$a_{m2} = \text{Ionenaktivität}_{\text{Meßion 2}}$$

$$a_{s1} = \text{Ionenaktivität}_{\text{Störion 1}}$$

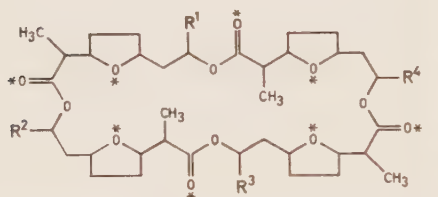
$$a_{s2} = \text{Ionenaktivität}_{\text{Störion 2}}$$

$$K_{M,S} = \text{Selektivitätsverhältnis Meßion (M) / Störion (S)}$$

Träger-Antibiotika der Valinomycin-Gruppe

Der selektive Kationen-Transport von Carrier-Antibiotika an natürlichen und künstlichen Membranen besitzt Interesse zur Erforschung von Transportvorgängen und Herstellung ionenselektiver Elektroden.

Bei Antibiotika mit Komplexbildungseigenschaften für Metallkationen lassen sich makrocyclische neutrale Moleküle und monobasische Säuren unterscheiden. Daher sind die Alkalimetallkationenkomplexe der Valinomycin-Gruppe — Valinomycin, Enniatin A, B und C, Makrotetrolide (Bild 4), Antamanid und Beauvericin — positiv geladen, die der Nigericin-Gruppe — Nigericin, Monensin, Grisordin, Dianemycin, X-206, X-537A — elektrisch neutral [84]. Bei der Metallkomplexbildung acyclischer Antibiotika baut der Ligand einen Pseudocyclus um das Kation [19].



$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{CH}_3$	NONACTIN
$R^1 = R^2 = R^3 = \text{CH}_3$ $R^4 = \text{C}_2\text{H}_5$	MONACTIN
$R^1 = R^3 = \text{CH}_3$ $R^2 = R^4 = \text{C}_2\text{H}_5$	DINACTIN
$R^1 = \text{CH}_3$ $R^2 = R^3 = R^4 = \text{C}_2\text{H}_5$	TRINACTIN
$R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{C}_2\text{H}_5$	TETRAACTIN

Bild 4. Makrotetrolid-Antibiotika [84]

$[(D\text{-Val} \rightarrow L\text{-Lac} \rightarrow L\text{-Val} \rightarrow D\text{-Hiv})_3]$	Valinomycin (24, 43, 45, 60)
$[(L\text{-Mlle} \rightarrow D\text{-Hiv})_3]$	Enniatin A (45)
$[(L\text{-MVal} \rightarrow D\text{-Hiv})_3]$	Enniatin B (45)

8	9	10	1	2
L-Pro	L-Phe	L-Phe	L-Val	L-Pro
↑				↓
L-Pro	L-Phe	L-Phe	L-Ala	L-Pro
7	6	5	4	3

Antamanid (94,95)

Im Gegensatz zu Monensin [84] und Antamanid [37, 84, 94], die Natrium-Ionen circa 10^{-1} selektiver als Kalium-Ionen binden, diskriminieren Valinomycin, Nactine, Enniatine, Beauvericin und Nigericin Natrium- gegenüber Kalium-Ionen [84].

Aus Markierungsexperimenten kann geschlossen werden, daß der Ionentransport durch Valinomycin und Makrotetrolide an Modellmembranen nach dem Träger-Staffetten-Mechanismus stattfindet, der möglicherweise an dünnen biologischen Membranen zu einem reinen freien Träger-Mechanismus entartet [96].

Das Antibiotikum Valinomycin verhält sich wie ein von der Natur vorgegebener multidentaler Carrier, der mit sechs Ester-Carbonylgruppen das Metallkation oktaedrisch koordiniert, wobei seine Konformation unter Ausbildung von sechs intramolekularen Wasserstoffbrücken zwischen den Amidgruppen stabilisiert wird [26]. Unterschiede im Gleichgewichtshohlraum dürften bei gleicher Koordinations-sphäre für die verschiedene Selektivitätssequenz von Valinomycin und Antamanid verantwortlich sein [57].

Das hochtoxische Valinomycin mit in vitro-Aktivität gegen *Mycobacterium tuberculosis* wird von Streptomyces fulvissimus produziert [93] und ist das kaliumselektive Antibiotikum par excellence. Drei wiederkehrende Einheiten mit abwechselnden Peptid- und Esterbindungen [43] von Amino-(D- und L-Valin) und Hydroxysäuren (D-2-Hydroxyisovaleriansäure, L-Milchsäure) fügen sich zum zyklischen Dipeptid.

Es wechseln D- und L-Konfigurationen paarweise ab [66], wobei die Valine auch wiederum je zur

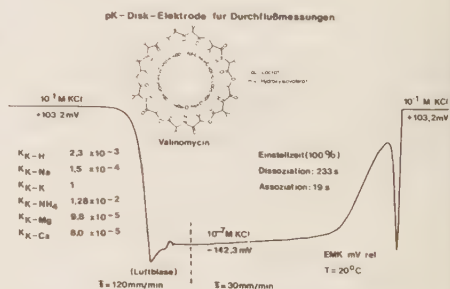


Bild 5. Quantitative Elektrodenkennzahlen einer kaliumselektiven Disk-Elektrode mit dem Träger-Antibiotikum Valinomycin, Strukturformel [43] (Zeitmarkierung: t_{Luftblase} = 6,5 s), Membrankomponenten des ionenselektiven Kunststoffes [75]: Valinomycin, Diphenyläther, Substituierte Nitrobenzolverbindungen, PVC, Cyclohexanon. Lineare Anzeige unter der Voraussetzung einer De logarithmierung des Meßsignals zwischen 10⁻¹ und 10⁻⁵ Mol KCl/l: Elektrodensteilheit > 55,5 mV/Aktivitätsdekade bei 20°C. Reproduzierbarkeit ± 0,3 mV.

Hälfte D- und L-Konfigurationen angehören (Bild 5). Nach Abstreifen seiner Hydrathülle schlüpft das Kaliumion in den von sechs Sauerstoffatomen umgrenzten Hohlraum des Valinomycins [24, 42]. Das Metallkation findet beim Komplexierungsvorgang, der in gewisser Hinsicht dem Prinzip der optimalen Hohlraumanpassung folgt, in den an der Bindung teilnehmenden Sauerstoffatomen einen Ersatz für seine Hydrathülle [19].

Ringflexibilität [20, 21, 62], niedrige Aktivierungsbarriere und hohe Ionenaustauschgeschwindigkeit [84] bei nur geringer Transportkonkurrenz durch Na^+ , Ca^{2+} und Mg^{2+} gepaart mit lipophiler Außenseite und hydrophilem (polarem) Hohlraum führten zum Bau von kalium- [25, 67, 68, 75, 76, 85] und ammoniumselektiven [79, 81] Membran-Elektroden mit Carrier-Antibiotika (Bild 5).

Synthetische neutrale Modell-Carrier für Kationen

Ausgehend von den an antibiotischen Metallkomplexen gewonnenen Erkenntnissen wurden auf der Basis von Modellberechnungen elektrisch neutrale Carrier vom Typ der Dioxakorsäure- und Dioxazelaissäurediamide für Li^+ [30], Na^+ [8, 31], Ca^{2+} [4, 5, 6, 97] und Ba^{2+} [2] entworfen und synthetisiert [2, 3, 7]. Zusätzlich zu den bei den Träger-Antibiotika der Valinomycingruppe beschriebenen Merkmalen im Hinblick auf ihre Komplexbildungseigenschaften für Metallkationen wurden kennzeichnende Forderungen an die Molekülstruktur synthetischer neutraler Modell-Carrier formuliert [2, 5, 7, 54, 56, 57, 84]: Die Selektierung von Erdalkali-Kationen erfordert eine Reduzierung der Ligandhülle, im Verhältnis zu Alkalitionen eine höhere Anzahl von Koordinationsstellen — Repulsion der Elektronenhüllen koordinierender Atome — und ein höheres Dipolmoment der Ligandgruppen. Als optimale Anzahl der Koordinationsstellen wurden für Alkali-Metallionen maximal 6, für Be^{2+} 4, für Mg^{2+} 6 und Ca^{2+} , Sr^{2+} und Ba^{2+} je 8 errechnet. Auf Grund dieser modelltheoretischen Überlegungen erscheint die Synthese eines elektrisch neutralen Carriers für Mg^{2+} oder gar Be^{2+} fast aussichtslos. Die vorzugsweisen Sauerstoffzentren als Koordinationsstellen können in Äther-, Keto-, Ester- oder Amid-Gruppierungen auftreten.

Die Selektivität von Transportmolekülen kann durch die Auswahl des Membran-Lösungsmittels drastisch beeinflußt werden [2]. Ein Anwachsen seiner Dielektrizitätskonstanten fördert die Diskriminierung 1-wertiger gegenüber 2-wertigen Kationen gleicher Größe und umgekehrt [2]. Große Erdalkali-Ionen erfordern daher neben einer hohen Dielektrizitätskonstanten des Lösungsmittels eine hohe Koordinationszahl des möglichst klein dimensionierten Carriers [57]. Die Inkorporation lipophiler Anionen wie

Tetraphenylborat in Me^+ -selektiven Membranen senkt die Anioneninterferenz seitens der Meßlösung [2, 55].

Quantitative Elektrodenkennzahlen einer calciumselektiven Disk-Elektrode mit einem synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carrier sind in Bild 6 zusammengestellt.

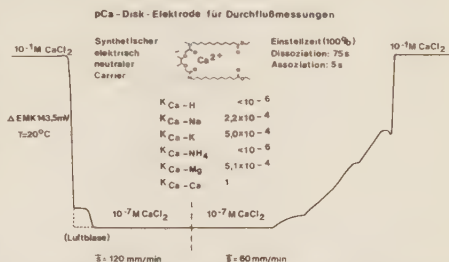


Bild 6: Quantitative Elektrodenkennzahlen einer calciumselektiven Disk-Elektrode mit einem synthetischen, elektrisch neutralen Modell-Carrier (Zeitmarkierung: $t_{\text{Luftblase}} = 6,5 \text{ s}$).

Membrankomponenten des ionenselektiven Kunststoffs:
 Ca^{2+} -selektiver Ligand [2, 4, 5, 6]
 α -Nitrophenyl-n-octyläther
 Na^+ -Tetraphenylborat
 PVC
 Cyclohexanon
 Lineare Anzeile unter der Voraussetzung einer Delogarithmierung des Meßsignals zwischen 10^{-1} und $10^{-6} \text{ Mol CaCl}_2/\text{l}$:
 Elektrodensteilheit 29,1 mV/Aktivitätsdekade
 bei 20 °C
 Reproduzierbarkeit $\pm 0,1 \text{ mV}$
 (Herr Prof. Dr. W. Simon/ETH Zürich stellte freundlicherweise den synthetischen elektrisch neutralen Ca^{2+} -Carrier zur Verfügung.)

Acyclische Polyäthylenglycole mit 12 Koordinationsstellen bilden noch stabile Ba^{2+} -Komplexe [50, 51] und werden außerdem als aktive Komponenten für Sr^{2+} -Sensoren [11] eingesetzt. Makrocyclische Polyäther [39, 49, 65] erreichen in Elektrodenmembranen die hohe Selektivität des Valinomycins für K^+ nicht [47, 69]. Krakenmoleküle [92] sind acyclische mehrarmige Polyäther-Komplexliganden für Kationen.

Die Ionen-Austauschgeschwindigkeit des in Bild 6 dargestellten synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carriers für Ca^{2+} liegt größenordnungsmäßig um den Faktor 10 höher als die des Träger-Antibiotikums Valinomycin für K^+ (Bild 5). Gegenüber makrobicyclischen Diaminen [19, 39, 49, 84, 89] vom Typ 222 für K^+ entfalten Carrier-Antibiotika und monocyclische Polyäther bei 25 °C eine 10^3 -mal höhere Dissoziationsrate [19].

Elektroaktive Phasen

Phosphat- und Polyphosphationen bilden mit Ca^{2+} stabile Komplexe. Das Ca -Salz der Didecylphosphorsäure in Diocetylphenylphosphonat [70, 71], ein wasserunlösliches flüssiges Ionenaustauschersystem

(Bild 7), wird als aktive Phase in calciumselektiven Disk-Elektroden [73] verwendet. Mit Trioctylmethylammoniumchlorid — Adogen 464, Tricaprylmethylammonium, Aliquat 336 S [13, 14, 40] — können anionenselektive Disk-Elektroden [76] und ebenfalls nach diesem Prinzip hochohmige Bezugsselektroden hergestellt werden [74].

Ag/AgCl 3 M KCl Ca ²⁺ _(a+x)		Ca-Salz der Didecylphosphorsäure Diocylphenylphosphonat PVC Cyclohexanon	P ₁
		K _{Ca-H}	6,5 · 10 ⁻²
		K _{Ca-Na}	9,5 · 10 ⁻³
		K _{Ca-K}	3,0 · 10 ⁻⁴
		K _{Ca-NH₄}	7,5 · 10 ⁻²
		K _{Ca-Mg}	1,8 · 10 ⁻³
		K _{Ca-Li}	1

Lineare Anzeige unter der Voraussetzung einer De logarithmierung des Meßsignals zwischen 10⁻¹ und 10⁻⁴ Mol CaCl₂/l;
Elektrodensteilzeit 28, 0 mV/Aktivitätsdekade bei 20° C
Elektrodensteilzeit (100 %-iger Endwert) 30 s/Aktivitätsdekade
Reproduzierbarkeit < ± 0,4 mV

Bild 7. Elektrochemischer Meßaufbau und quantitative Elektrodenkennzahlen einer calciumselektiven Disk-Elektrode [73] mit einem elektrisch geladenen Liganden [70]

Gassensoren

Potentiometrische Sensoren für CO₂ [59, 82, 83, 87, 88], NH₃ [12, 63] und SO₂ [12] lassen sich auch als Einstabmeßketten konstruieren, da sich das Bezugs-elektrodenhalbelement in unmittelbarer Nachbarschaft zur Meßelektrode unterbringen läßt und die Stromschlüsselkontaktzone im Innenlösungsraum münden muß, der mittels PTFE-Membran gegenüber der Meßlösung abgetrennt wird.

Im Gegensatz zu CO₂, das eine entsprechende Menge H⁺-Ionen freisetzt, reagiert NH₃ unter Protonenverbrauch mit Wasser [12]. Die potentiometrisch arbeitenden, gassensensitiven Elektroden zeigen Nernstsches Verhalten [63]. Als treibende Kraft für den transmembranösen Gastransport ist der Partialdruck verantwortlich.

Da bei der Elektrodeneichung das Lösungsgleichgewicht

$$p_{\text{Gas}} = k \times [\text{Gas}]$$

k = Proportionalitätskonstante für die stoffspezifische physikalische Löslichkeit des Gases in einer Lösung

mitefäst wird, sind die Eichlösungen den Meßlösungen so weit als möglich anzugleichen.

Zur Messung des Sauerstoffpartialdruckes wird der Reduktionsstrom bei konstanter Spannung im Bereich des Diffusionsgrenzstromes als Maß für die in der Zeiteinheit die Platinkathode erreichenden O₂-Moleküle genutzt [15, 17]. Silberanode, Elektrolytlösung gepuffert [27] oder ungepuffert — z. B.

0,2 M KCl — und ionenundurchlässige, aber gaspermeable PTFE-Membran komplettieren die O₂-Elektrode. Der Mechanismus der kathodischen Sauerstoffreduktion dürfte im neutralen oder alkalischen Medium wahrscheinlich folgendermaßen ablaufen [29, 48]:



Kinetik und noch nicht vollständig geklärter Reaktionsablauf stehen immer wieder im Mittelpunkt von Untersuchungen [22]. Bei der in Bild 3 b dargestellten Konstruktion mit wahlweise auch mehreren stirnflächenfreien 15 µm Pt-Drahtseelen in einem höchstens 1 mm starken (φ) Glasmantel erübrigen sich besondere Maßnahmen wie ein Rahmschleifen des Glasisolationsmantels oder Einlegen eines etwa 12 µm starken Cellophanplättchens [29] zwischen Membraninnenfläche und glasummantelter Platin-kathode. Trotz der Verwendung von Kunststoffbauteilen ist die Meßwertanzeige stabil und reproduzierbar, da sich ein Fließgleichgewicht zwischen O₂-Eigenverbrauch des Meßfühlers, der Löslichkeit von Gasen in den Kunststoffteilen des Gesamtsystems und dem CO₂-Angebot des Meßgutes einstellt. Eine Sauerstoffverarmung an der Membranaußenfläche kann bei Durchflußmessungen nicht auftreten, da eine Teilchenbewegung per se stattfindet. Gassensitive Elektroden werden nach Erneuerung gealterter Innen-Elektrolytlösungen wieder einsetzbar. Daher trägt eine abnehmbare PTFE-Kappe mit leckstromsicher aufgeschweißter, circa 12 µm starker PTFE-Membran erheblich zur Wartungsfreundlichkeit dieser Sensoren bei. Das Verschweißen wird mit einem Widerstandsschweißgerät unter fortlaufender Überwachung der Schweißtemperatur am Schweißformwerkzeug mittels NiCr-Konst-Thermoelementen bei circa 395 °C durchgeführt [74, 78]. Zur Dichtigkeitskontrolle der Schweißnaht erfolgt anschließend eine Leckstromprüfung.

An einem mit Thermostat auf 37 °C gehaltenen Meßplatz wurde der O₂-Sensor mittels wasserdampfgesättigter Gase fortlaufend angeströmt und geeicht. Die Anzeigegewindigkeit (100 %/s) lag bei etwa 10 bis 30 s. Die Elektrodensteilzeit einer Eindraht-Elektrode betrug bei konstanter Polarisierungsspannung von 800 mV 2 × 10⁻² nA/Torr O₂ bei einer Meßgenauigkeit von ± 1,0 Torr und besser. In Abwesenheit des Depolarisators O₂ liefern N₂ und CO₂ in neu abgefüllten Innen-Elektrolytlösungen bei einem Auflösungsvermögen des Meßgerätes von 10⁻² nA einen Grundstrom von maximal 0,01 nA, der in gealterten bis auf 0,05 nA ansteigen kann.

Die Reaktionsgeschwindigkeit der kathodischen Sauerstoffreduktion nimmt in der Reihenfolge Li⁺, Na⁺, K⁺, Rb⁺, Cs⁺ und (CH₃)₄N⁺ ab und kann als

spezifische Wirkung der Kationen gedeutet werden [22].

Der bei unterschiedlichem osmotischem Druck zwischen Meß- und Innenlösung einsetzende transmembranöse Wasserdampftransport kann zu einer driftenden Anzeige und nach längerer trockener Aufbewahrung zu einer Salzkristallbildung an der Membraninnenseite führen.

Elektrochemisch-enzymatische Analytik

Grundlage dieses spezifischen Verfahrens ist die elektrochemische Analyse nach enzymatischem Substratsatz. Vom bautechnischen Standpunkt erscheint eine Einteilung nach räumlichen Anordnungsmöglichkeiten für Enzyme — prämembranös, postmembranös, vaskulär und schwimmend — an sekundären Detektoren gerechtfertigt [74]. Das vaskuläre Verfahren mit schlauchartigen, oberflächlich mit Enzymen besetzten Reaktoren [23, 58] ist im Hinblick auf die räumliche Trennung von Enzym und Sensor ein Sonderfall des prämembranösen. In schwimmend aufgebauten elektrochemisch-enzymatischen Analysensystemen wird das lösliche Enzym vor einem Reaktor kontinuierlich zugepumpt und nach partiellem Substratsatz die sich ausbildende Ionen- [80] oder Gasdifferenz [78] zeitkonstant elektrochemisch gemessen. Eine Technik mit einem zweiten Sensor vor Enzymkontakt ermöglicht eine nicht enzymatisch bedingte Pegeländerung von Meßion oder -gas zu korrigieren [78, 80].

Elektrochemische Messungen mit löslichen oder immobilisierten Enzymen [52, 61, 64] stellen Alternativen für Analysenautomaten dar.

Klassische Beispiele für elektrochemisch-enzymatische Meßverfahren sind die O_2 -sensitiv-enzymatische Bestimmung von β -D-Glucose mit Glucoseoxidase [16, 78, 90] und die ionenselektiv-enzymatische Registrierung von Harnstoff mit Urease [32, 33, 34, 35, 36, 80]. Bleibt man beim Prinzip ionenselektiver und gassensitiver Elektroden, so kann man eine Vielzahl enzymatischer Reaktionen messen [48, 74].

Referenz-Elektroden

Die im elektrochemischen Gleichgewichtszustand der Nernst-Gleichung folgenden Meßelektrodenpotentiale werden gegen eine Bezugs elektrode [9, 10, 12, 18, 28, 38, 41] mit konstanter Gleichgewichtsgalvanispannung gemessen.

Von den sekundären Bezugs elektroden hat sich die Ag/AgCl-Referenzelektrode auf Grund ihrer stabilen Gleichgewichtsgalvanispannung, guten reproduzierbaren Herstellung, kleinen Temperaturhysterese und bedienungsfreundlichen Handhabung [12] im Routinebetrieb besonders bewährt.

Abschirmung und niederohmige Bezugs elektrode benutzen gemeinsam die Masse des Elektrodenkabels. Eine hochohmige Referenz-Elektrode nach dem Disk-Elektroden-Prinzip mit kalium- oder chloridselektiven Kunststoffen (Bild 8) kann bei Elektrometern mit hochohmigem Differenzeingang zusätzlich betrieben werden.

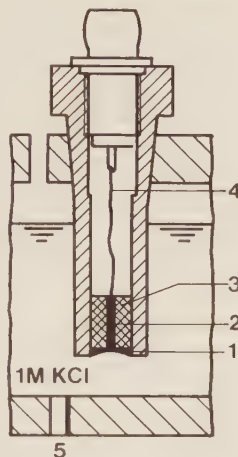


Bild 8. Hochohmige Bezugs elektrode nach dem Disk-Elektroden-Prinzip

- 1 Ionenselektiver Kunststoff
- 2 Pt-Draht
- 3 Acrylglassmantel
- 4 PTFE-isolierte, versilberte Cu-Litze
- 5 Stromschlüsselkontaktzone: PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder aufgeschweißte PTFE-Membran mit mechanisch bzw. durch fokussierten Laserstrahl erzeugtem Mikroleck [72]

Bezugs elektrode und Stromschlüsselkontaktzone sind bei Elektrodenmeßketten äußerst störanfällige Glieder und die Hauptursachen für Störungen bei EMK-Messungen [12]. Für das Multimeßsystem wurde eigens ein auswechselbarer Stromschlüsselkontakt-Stecker (Bild 3 c) entwickelt, der die bewährte Stromschlüsselkontaktzone aus einem PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe oder eine aufgeschweißte PTFE-Membran mit mechanisch oder durch fokussierten Laserstrahl erzeugtem Mikroleck aufweist [72].

Die Berechnung der Diffusionsspannung zwischen Meß- und Bezugs lösung hat mehr theoretisches Interesse, da die Herleitungsbedingungen in der Praxis zur Anwendung der Plank-Hendersonschen Gleichung kaum erfüllt sind. Die praktische Konsequenz besteht daher in der Forderung nach einer verringerten, weitgehend konstanten Diffusionspannung durch Verwendung eines 0,1–3 M KCl-Stromschlüssel-Elektrolyten mit den Überföhrungszahlen $t_{K^+} = 0,49$ und $t_{Cl^-} = 0,51$. Bei Meßketten ohne Überföhrung läßt sich infolge schneller hydro-

mechanischer Vermischung von Meß- und Referenzlösung das Diffusionspotential vernachlässigen [12]. Die Referenzseite des elektrochemischen Multimeßsystems kann durch eine Umwälzpumpe für die Bezugslösung der Gravitationsunabhängigkeit der Sensoren angepaßt werden.

Anwendungsmöglichkeiten

Für die theoretische Medizin eröffnet sich ein weites Einsatzgebiet durch die Möglichkeit kinetischer Untersuchungen [86]. Abgesehen von der klinisch-chemischen Analytik besteht ferner Interesse für die Gebiete der physiko-chemischen Forschung, industriellen Prozeßkontrolle und des Umweltschutzes. Die gravitationsunabhängige Funktionsweise macht das elektrochemische Multimeßsystem für die Raumfahrtmedizin interessant. Andererseits sollte es prinzipiell möglich sein, dieses Meßsystem als Sensoranteil in künstliche Organe einzubauen oder in einen geschlossenen Regelkreis zur gesteuerten Therapie zwischen Patient und Therapiegerät zu integrieren [74].

Die zukünftige Planung sieht eine Erweiterung der bereits bestehenden Möglichkeit der patientendirekten Messung [77] durch ein Teleskop-Kathoderelektroden-System vor.

Das Projekt wird durch die Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v. d. H. im Rahmen einer Koordinierten Forschung zur Entwicklung elektrochemischer Sensoren für Physiologie und Medizin gefördert.

Literatur:

- [1] Ackermann, G., W. Jugelt, H.-H. Möbius, H. D. Suschke, G. Werner: Elektrolytgleichgewichte und Elektrochemie. Verlag Chemie. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1974), Lizenzausgabe des Verlags Chemie Weinheim.
- [2] Ammann, D., R. Bissig, Z. Cimerman, U. Fiedler, M. Güggi, W. E. Morf, M. Oehme, H. Osswald, E. Pretsch, W. Simon: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: Kessler, M., L. C. Clark, D. W. Lübbers, I. A. Silver, W. Simon: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 22.
- [3] Ammann, D., R. Bissig, M. Güggi, E. Pretsch, W. Simon, I. J. Borowitz, L. Weiss: Preparation of Neutral Ionophores for Alkali and Alkaline Earth Metal Cations and their Application in Ion Selective Membrane Electrodes. *Helv. Chim. Acta* 58 (1975), 1535.
- [4] Ammann, D., M. Güggi, E. Pretsch, W. Simon: Improved Calcium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier. *Anal. Letters* 8 (1975), 709.
- [5] Ammann, D., E. Pretsch, W. Simon: A Synthetic Electrically Neutral Carrier for Ca^{2+} . *Tetrahedron Letters* 24 (1972), 2473.
- [6] Ammann, D., E. Pretsch, W. Simon: A Calcium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier. *Anal. Letters* 5 (1972), 483.
- [7] Ammann, D., E. Pretsch, W. Simon: Darstellung von neutralen, lipophilen Liganden für Membranelektroden mit Selektivität für Erdalkali-Ionen. *Helv. Chim. Acta* 56 (1973), 1780.
- [8] Ammann, D., E. Pretsch, W. Simon: A Sodium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier. *Anal. Letters* 7 (1974), 23.
- [9] Baucke, F. G. K.: Standardpotentiale ($\epsilon^0 + \epsilon_j$)_r der Silber/Silberchlorid-Elektrode in 3,5 m und in ges. KCl unter Verwendung entsprechender („Cl⁻ionensensitiver“) Membranelektroden (0–95 °C). *Chemie-Ing.-Techn.* 47 (1975), 565.
- [10] Baucke, F. G. K.: Reference Electrodes for Measurements with Ion-sensitive Electrodes. The Importance of the Liquid Junction Potential. In: Kessler, M., L. C. Clark, D. W. Lübbers, I. A. Silver, W. Simon: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 200.
- [11] Baumann, E. W.: Preparation and Properties of a Strontium-Selective Electrode. *Anal. Chem.* 47 (1975), 959.
- [12] Cammann, K.: Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973).
- [13] Coetzee, C. J., H. Freiser: Anion-Responsive Electrodes Based on Ion Association Extraction Systems. *Anal. Chem.* 40 (1968), 2071.
- [14] Coetzee, C. J., H. Freiser: Liquid-Liquid Membrane Electrodes Based on Ion Association Extraction Systems. *Anal. Chem.* 41 (1969), 1128.
- [15] Clark, L. C.: Monitor and Control of Blood and Tissue Oxygen Tensions. *Trans. Amer. Soc. for Art. Int. Organs* 2 (1956), 41.
- [16] Clark, L. C., G. Sachs: Bioelectrodes for Tissue Metabolism. In: Feder, W., E. M. Weyer, M. Krauss, A. G. La Mirande: Bioelectrodes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 148 (1968), 133.
- [17] Clark, L. C., R. Wolf, D. Granger, Z. Taylor: Continuous Recording of Blood Oxygen Tensions by Polarography. *J. Appl. Physiol.* 6 (1953), 189.
- [18] Covington, A. K.: Reference Electrodes. In: Durst, R. A.: Ion-Selective Electrodes. Washington: NBS, Spec. Publ. 314 (1969), 107.
- [19] Dietrich, B., J.-M. Lehn, J.-P. Sauvage: Kryptate: makrocyclische Metallkomplexe. *Chemie in unserer Zeit* 7 (1973), 120.
- [20] Dobler, M., J. D. Dunitz, B. T. Kilbourn: Die Struktur des KNCS-Komplexes von Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 52 (1969), 2573.
- [21] Dobler, M., R. P. Hizackerley: The Crystal Structure of the NaNCS Complex of Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 57 (1974), 664.
- [22] Fabjan, C., A. Loppreis, A. Neckel: Der Einfluß der Kationen alkalischer Elektrolyte auf die Geschwindigkeit der kathodischen Sauerstoffreduktion an Platin. *Monatshefte für Chemie* 107 (1976), 1209.
- [23] Filippusson, H., W. E. Hornby, A. McDonald: The Use of Immobilised Derivatives of Urease and Urate Oxidase in Automated Analysis. *FEBS Letters* 20 (1972), 291.
- [24] Franklin, T. J., G. A. Snow: Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe. Übersetzt und bearbeitet von W. Goebel. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973).
- [25] Frant, M. S., J. W. Ross: Potassium Ion Specific Electrode with High Selectivity for Potassium over Sodium. *Science* 167 (1970), 987.

- [26] Funck, Th., F. Eggers, E. Grell: Kinetik und Mechanismus der selektiven Bindung von Ionen durch Cyclodepsipectid-Antibiotika. *Chimia* 26 (1972), 637.
- [27] Cambino, R., R. Thiers, S. Becker, G.D. Bates: Oxygen, Partial Pressure (p_{O_2}) Electrode Method. *Stand. Math. Clin. Chem.* 6 (1970), 171.
- [28] Giner, J.: *J. electrochem. Soc.* 111 (1964), 376. Zit. nach [12].
- [29] Gleichmann, U., D.W. Lübbers: Die Messung des Sauerstoffdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut. *Pflügers Archiv* 271 (1960), 431.
- [30] Güggi, M., U. Fiedler, E. Pretsch, W. Simon: A Lithium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier. *Anal. Letters* 8 (1975), 857.
- [31] Güggi, M., M. Oehme, E. Pretsch, W. Simon: Neutraler Ionophor für Flüssigmembranelektroden mit hoher Selektivität für Natrium- gegenüber Kalium-Ionen. *Helv. Chim. Acta* 58 (1976), 2417.
- [32] Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: A Urea-Specific Enzyme Electrode. *J. Amer. Chem. Soc.* 91 (1969), 2164.
- [33] Guilbault, G.G., J.G. Montalvo: An Enzyme Electrode for the Substrate Urea. *J. Amer. Chem. Soc.* 92 (1970), 2533.
- [34] Guilbault, G.G., Geza Nagy, S.S. Kuan: An Improved Electrode for the Assay of Urea in Blood. *Anal. Chim. Acta* 67 (1973), 195.
- [35] Guilbault, G.G., W. Stokbro: The Immobilized Enzyme Stirrer. Part I. A Specific Electrode for Urea. *Anal. Chim. Acta* 76 (1975), 237.
- [36] Guilbault, G.G., Mads Tarp: A Specific Enzyme Electrode for Urea. *Anal. Chim. Acta* 73 (1974), 355.
- [37] Ivanov, V.T., A.I. Miroshnikov, N.D. Abdullaev, S.B. Senyavina, S.F. Arkhipova, N.N. Uvarova, K. Kh. Khalilulina, V.F. Bystrov, Yu.A. Ovchinnikov: Conformation of the Na^+ Complex of Antamanide in Solution. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 42 (1971), 654.
- [38] Ives, D.J.G., G.J. Janz: Reference Electrodes. Academic Press, New York (1961).
- [39] Izatt, R.M., D.J. Eatough, J.J. Christensen: Thermodynamics of Cation-Macrocyclic Compound Interaction. In: Dunitz, J.D., P. Hemmerich, J.A. Ibers, C.K. Jørgensen, J.B. Neilands, D. Reinen, R.J.P. Williams: Structure and Bonding. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973), 161.
- [40] James, H., G. Carmack, H. Freiser: Coated Wire Ion Selective Electrodes. *Anal. Chem.* 44 (1972), 856.
- [41] Janz, G.J., D.J.G. Ives: Silver, Silver Chloride Electrodes. In: Feder, W., E.M. Weyer, M. Krauss, A.G. La Miranda: Bioelectrodes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 148 (1968), 210.
- [42] Johnson, C.K., M. Pinkerton, L.K. Steinrauf: Persönliche Mitteilung an Franklin, T.J., G.A. Snow: Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe. Übersetzt und bearbeitet von W. Goebel. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973), 64.
- [43] Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag Stuttgart (1972), 36.
- [44] Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. *J. Amer. Chem. Soc.* 59 (1937), 1675.
- [45] Kilbourn, B.T., J.D. Dunitz, L.A.R. Pioda, W. Simon: Structure of the K^+ Complex with Nonactin: a Macroretroline Antibiotic possessing Highly Specific K^+ Transport Properties. *J. Mol. Biol.* 30 (1967), 559.
- [46] Kortüm, G.: *Lehrbuch der Elektrochemie*. Verlag Chemie Weinheim (1972).
- [47] Koryta, J.: Ion-selective electrodes. Cambridge monographs in physical chemistry 2. Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, Melbourne (1975).
- [48] Lakshminarayanaiah, N.: *Membrane Electrodes*. Academic Press, New York, San Francisco, London (1976).
- [49] Lehn, J.-M.: Design of Organic Complexing Agents. Strategies towards Properties. In: Dunitz, J.D., P. Hemmerich, J.A. Ibers, C.K. Jørgensen, J.B. Neilands, D. Reinen, R.J.P. Williams: Structure and Bonding. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973), 1.
- [50] Levins, R.J.: Barium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier Complex. *Anal. Chem.* 43 (1971), 1045.
- [51] Levins, R.J.: Barium Ion-Selective Electrode Based on a Neutral Carrier Complex. *Anal. Chem.* 44 (1972), 1544.
- [52] Manecke, G.: Immobilisierte Enzyme. *Chimia* 28 (1974), 467.
- [53] Metrohm: Ionen-spezifische Elektrode. *Firmenschrift* (1971).
- [54] Morf, W.E., D. Ammann, E. Pretsch, W. Simon: Carrier Antibiotics and Model Compounds as Components of Selective Ion-Sensitive Electrodes. *Pure and Applied Chem.* 36 (1973), 421.
- [55] Morf, W.E., D. Ammann, W. Simon: Elimination of the Anion Interference in Neutral Carrier Cation-Selective Membrane Electrodes. *Chimia* 28 (1974), 65.
- [56] Morf, W.E., W. Simon: Berechnung von freien Hydratationsenthalpien und Koordinationszahlen für Kationen aus leicht zugänglichen Parametern. *Helv. Chim. Acta* 54 (1971), 794.
- [57] Morf, W.E., W. Simon: Abschätzung der Alkali- und Erdalkali-Ionenselektivität von elektrisch neutralen Träger-Antibiotika („Carrier-Antibiotica“) und Modellverbindungen. *Helv. Chim. Acta* 54 (1971), 2683.
- [58] Morris, D.L., J. Campbell, W.E. Hornby: A Chemistry for the Immobilization of Enzymes on Nylon. The Preparation of Nylon-Tube-Supported Hexokinase and Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase and the Use of the Co-Immobilized Enzymes in the Automated Determination of Glucose. *Biochem. J.* 147 (1975), 593.
- [59] Müller-Plathe, O.: Säure-Basen-Haushalt und Blutgase. Pathophysiologie-Klinik-Methodik. In: Breuer, H., H. Büttner, G. Hillmann, D. Stamm: *Klinische Chemie in Einzeldarstellungen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Bd. 1 (1973).
- [60] Mueller, P., D.O. Rudin: Development of K^+ - Na^+ Discrimination in Experimental Bimolecular Lipid Membranes by Macrocyclic Antibiotics. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 26 (1967), 398.
- [61] Nelboeck, M., D. Jaworek: Immobilisierte Enzyme und Prinzipien für ihre Anwendung bei analytischen und präparativen Verfahren. *Chimia* 29 (1975), 109.
- [62] Neupert-Laves, K., M. Dobler: The Crystal Structure of the NH_4NCS Complex of Nonactin. *Helv. Chim. Acta* 59 (1976), 614.

- [63] Orion: Ammoniak elektrode, modell 95-10. Firmenschrift (1972).
- [64] Orth, H. D., W. Brümmer: Träger-gebundene, biologisch-aktive Substanzen und ihre Anwendung. *Angew. Chem.* 84 (1972), 319.
- [65] Pedersen, C. J., H. K. Frensdorff: Makrocyclische Polyäther und ihre Komplexe. *Angew. Chem.* 84 (1972), 16.
- [66] Pinkerton, M., L. K. Steinrauf, P. Dawkins: The Molecular Structure and Some Transport Properties of Valinomycin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 35 (1969), 512.
- [67] Pioda, L. A. R., V. Stankova, W. Simon: Highly Selective Potassium Ion Responsive Liquid-Membrane Electrode. *Anal. Letters* 2 (1969), 665.
- [68] Pioda, L. A. R., H.-K. Wipf, W. Simon: Kristalliner Komplex von Kaliumrhodanid mit Valinomycin, einem Antibiotikum hoher Kaliumionenselektivität. EMK-Messungen an künstlichen Membranen. *Chimia* 22 (1968), 189.
- [69] Rechnitz, G. A., Ehud Eyal: Selectivity of Cyclic Polyether Type Liquid Membrane Electrodes. *Anal. Chem.* 44 (1972), 370.
- [70] Ross, J. W.: Calcium-Selective Electrode with Liquid Ion Exchanger. *Science* 156 (1967), 1378.
- [71] Ross, J. W.: Solid- State and Liquid Membrane Ion-Selective Electrodes. In: Durst, R. A.: *Ion-Selective Electrodes*. Washington, NBS, Spec. Publ. 314 (1969), 57.
- [72] Schindler, J. G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. *Biomed. Techn.* 20 (1975), 75.
- [73] Schindler, J. G., W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. *Biomed. Techn.* 20 (1975), 76.
- [74] Schindler, J. G., W. Riemann: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparaturbau KG in Bad Homburg v. d. H., 1. Aufl. (1977).
- [75] Schindler, J. G., W. Riemann, W. Schäl: Kaliumselektive Scheiben-Elektrode mit Valinomycin für Durchflußmessungen. *Biomed. Techn.* 21 (1976), 135.
- [76] Schindler, J. G., A. Mönnich, W. Riemann, H. E. Braun: Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode. *Biomed. Techn.* 22 (1977), 209.
- [77] Schindler, J. G., R. Denhardt, W. Simon: Kontinuierliche, ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessung am Menschen. Hämolyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose. *Chimia*, im Druck.
- [78] Schindler, J. G., W. Riemann, D. Sailer, G. Berg, W. Schäl: Durchflußmeßsystem zur O_2 -sensitiv-enzymatischen Glucoseanalyse. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, im Druck.
- [79] Schindler, J. G., R. G. Schindler, O. Aziz: Ammoniumselektive Disk-Elektrode mit dem Carrier-Antibiotikum Nonactin. In Vorbereitung.
- [80] Schindler, J. G., R. G. Schindler, O. Aziz: Durchflußsystem zur NH_4^+ -selektiv-enzymatischen Harnstoffmessung. In Vorbereitung.
- [81] Scholer, R. P., W. Simon: Antibiotika-Membran-elektrode zur selektiven Erfassung von Ammoniumionenaktivitäten. *Chimia* 24 (1970), 372.
- [82] Severinghaus, J. W.: Electrodes for Blood and Gas pCO_2 , pO_2 and Blood pH. *Acta Anaesth. Scand. Suppl.* 2 (1962), 206.
- [83] Severinghaus, J. W., A. F. Bradley: Electrodes for Blood pO_2 and pCO_2 Determination. *J. Appl. Physiol.* 13(1958), 515.
- [84] Simon, W., W. E. Morf, P. Ch. Meier: Specificity for Alkali and Alkaline Earth Cations of Synthetic and Natural Organic Complexing Agents in Membranes. In: Dunitz, J. D., P. Hemmerlich, J. A. Ibers, C. K. Jørgensen, J. B. Neilands, D. Reinen, R. J. P. Williams: *Structure and Bonding*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973), 113.
- [85] Simon, W., H.-R. Wuhrmann, M. Vasák, L. A. R. Pioda, R. Dohner, Z. Stefanac: Ionenselektive Sensoren. *Angew. Chem.* 82 (1970), 433.
- [86] Steffen, Ch., J. G. Schindler, O. Aziz: Ionisiertes Calcium im Pankreassaft des Hundes: Fortlaufende Registrierung mit einer Scheibenelektrode. *Biomed. Techn.* 21 (1976), 188.
- [87] Stow, R. W., R. F. Baer, B. F. Randall: Rapid Measurement of the Tension of Carbon Dioxide in Blood. *Arch. Phys. Med.* 38 (1957), 646.
- [88] Stow, R. W., B. F. Randall: Electrical Measurement of the pCO_2 of Blood. *Amer. J. Physiol.* 179 (1954), 678.
- [89] Truter, M. R.: Structures of Organic Complexes with Alkali Metal Ions. In: Dunitz, J. D., P. Hemmerlich, J. A. Ibers, C. K. Jørgensen, J. B. Neilands, D. Reinen, R. J. P. Williams: *Structure and Bonding*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973), 71.
- [90] Urdike, S. J., G. P. Hicks: The Enzyme Electrode. *Nature* 214 (1967), 986.
- [91] Vodrázka, Z.: *Physikalische Chemie für Biologen, Mediziner, Pharmazeuten*. Avicenum, Tschechoslowakischer Verlag für Medizin, Prag (1976); Walter de Gruyter, Berlin, New York (1976).
- [92] Vögtle, F., E. Weber: Krakenmoleküle. *Angew. Chem.* 86 (1974), 896.
- [93] Waley, S. G.: Naturally Occurring Peptides. In: Anfinsen, C. B., M. L. Anson, J. T. Edsall, F. M. Richards: *Advances in Protein Chemistry*. Academic Press, New York and London 21 (1966) 1.
- [94] Wieland, Th., H. Faulstich, W. Burgermeister, W. Otting, W. Möhle, M. M. Shemyakin, Yu. A. Ovchinnikov, V. T. Ivanov, G. G. Malenkov: Affinity of Antamanide for Sodium Ions. *FEBS Letters* 9 (1970), 89.
- [95] Wieland, Th., G. Lüben, H. Ottenheim, J. Faesel, J. X. de Vries, W. Konz, A. Prox, J. Schmid: Antamanid. Seine Entdeckung, Isolierung, Strukturauflösung und Synthese. *Angew. Chem.* 80 (1968), 209.
- [96] Wipf, H.-K., A. Olivier, W. Simon: Mechanismus und Selektivität des Alkali-Ionentransportes in Modell-Membranen in Gegenwart des Antibiotikums Valinomycin. *Helv. Chim. Acta* 53 (1970), 1605.
- [97] Wuhrmann, P., A. P. Thoma, W. Simon: Calcium Carrier Properties of Neutral Synthetic Ligands in Bulk Membranes. *Chimia* 27 (1973), 637.

378

Anschrift des Verfassers:

Dr. Dr. J. G. Schindler
Medizinisches Zentrum für
Theoretische Medizin
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

- [4] Lang, S.: Natürliche und künstliche partielle Faraday-Bedingungen bzgl. luftelektrischer Parameter in Wohnsiedlungen. Verh. Ges. f. Ökologie (1973), 371—377
- [5] Ludwig, H. W.: Shielding Effect of Materials in the ULF, ELF and VLF Region. Int. J. Biometeorology 17 (1973), 207—211

319

Anschrift der Verfasser:

Dr. rer. nat. Wolfgang Bach
Am Hasenbühl 25
6606 Saarbrücken-Gersweiler

Dr. rer. nat. Siegnot Lang
Fachbereich Biologie
Universität des Saarlandes
Im Stadtwald
D-6600 Saarbrücken 11

Kurzberichte

Unter „Kurzberichte“ werden Arbeiten veröffentlicht, die in ihrem Umfang 3 DIN-A 4 Seiten (1½-zellig beschrieben) einschließlich Literatur und Bildmaterial nicht überschreiten. Eine Veröffentlichung derartiger Arbeiten wird innerhalb von 3 Monaten erfolgen.

Ionisiertes Calcium im Pankreassaft des Hundes: Fortlaufende Registrierung mit einer Scheibenelektrode

Die Messung des ionisierten Calciums im Serum ist seit den grundlegenden Arbeiten von McLean und Hasting [3] mit den verschiedensten Methoden (Ultrafiltration, Ultrazentrifugation, Dialyse) durchgeführt worden. Dabei konnte die Abhängigkeit des ionisierten Calciums von pH, Proteinkonzentration und Gesamtcalciumkonzentration gezeigt werden. Für biolog. Flüssigkeiten, deren Calcium- und Proteinkonzentration kurzfristigen Veränderungen unterworfen sind, war keine der früher angegebenen Methoden geeignet.

Nachdem wir in früheren Versuchen die stimulierende Wirkung des gastrointestinalen Hormons Pankreozym auf die Calciumausscheidung zeigen konnten [1], waren wir jetzt in der Lage, mit der von Schindler und Riemann [4] entwickelten Scheibenelektrode auch das ionisierte Calcium im Pankreassaft fortlaufend zu messen.

Methode

Bei Hunden mit chron. implantierten Thomas-kanülen wurde der Pankreasgang unter Sicht kanüliert, das ionisierte Calcium (Ca^{++}) mit der Scheibenelektrode im Durchfluß gemessen und anschließend gesammelt. Der Totraum des gesamten Systems betrug 1,2 ml. Protein wurde nach Lowry [2], Gesamtcalcium (Ca ges.) flammenphotometrisch bestimmt.

Ergebnisse

Unter Basisstimulation mit Sekretin (1 klin. E/kg h) betrug (Ca ges.) 0,6—1,0 mval/l, der Proteingehalt lag bei 0,5—1 mg/ml. (Ca^{++}) betrug 0,18—0,25 mval/l. Nach Injektion von Pankreozym (1 bzw. 2 HE/kg) stieg der Proteingehalt kurzfristig auf 17—20 mg/ml an, die maximale Calciumkonzentration betrug 4—4,5 mval/l. Dem Anstieg des (Ca ges.) um ca. 400 % steht eine Zunahme von (Ca^{++}) um nur 50 % gegenüber (Bild 1).



Pankreassaft-Hund – Sekretin stimuliert
Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen

1min

a: - 27,4 mV rel. - 0,19 mval Ca/l
b: - 22,3 " - 0,29 "
a': - 29,0 " - 0,18 "
b': - 21,8 " - 0,30 "
0,0 - - 2,00 "

Bild 1. Wirkung von Pankreozym auf die Konzentration des ionisierten Calcium unter Basisstimulation mit Sekretin (1 klin. E/kg h). (Originalregistrierung, von rechts nach links)

Diskussion

Der vergleichsweise geringe Anstieg des ionisierten Calciums unter Sekretin macht deutlich, daß der größte Teil des Calciums im Bauchspeichel in proteingebundener Form vorliegt. Dies stimmt mit der Vorstellung überein, daß Calcium in der Azinuszelle an das Enzymprotein gebunden gespeichert und als Komplex sezerniert wird. Als zweite Möglichkeit wäre auch eine Gleichgewichtseinstellung im Gangsystem zu diskutieren, bei der eine durch das Hormon hervorgerufene Permeabilitätsänderung der Zellmembran zu einem Austritt des Calciums und anschließender Bindung an das Enzym führt.

Für diese Untersuchung ist die Durchflußelektrode ein deutlicher Fortschritt. Zimmermann und Mitarbeiter [5], die ebenfalls mit einer ionenselektiven Elektrode (Ca^{++}) im Pankreassaft gemessen haben, fanden unter Sekretin Werte, die mit den unsrigen gut übereinstimmen, sie konnten aber bei zusätzlicher Gabe von Pankreozym keine Änderung des (Ca^{++}) feststellen.

Literatur

- [1] Goebell, H., Ch. Steffen und Ch. Bode: Stimulatory effect of pancreozymin-cholecystokinin on calcium secretion in pancreatic juice of dogs. GUT 13 (1972), 477—482
- [2] Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr und R. J. Dandall: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 (1951), 265—275

- [3] McLean, F. C., A. B. Hastings: A biological method for the estimation of calcium ion concentration. *J. Biol. Chem.* 107 (1934), 337—350
- [4] Schindler, J. G., und W. Riemann: Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen. *Biomed. Technik* 20 (1975), 76—77
- [5] Zimmermann, M. J., E. W. Moore, D. A. Dreiling und H. D. Janowitz: Pancreatic juice ionized and total calcium in dogs in response to secretin, pancreozymin, and calcium infusions. *J. clin. Invest.* 50 (1971), 103 a

K 46

Anschrift der Verfasser:

Dr. med. Ch. Steffen
Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Dr. Dr. J. G. Schindler
Prof. Dr. O. Aziz
Institut für Angewandte Physiologie
Lahnberge

D-3550 Marburg

Mitteilungen

Bericht über die 3. Fachtagung Krankenhaustechnik „Infektiöser Müll im Krankenhaus“ vom 31. 5. bis 1. 6. 1976 an der Medizinischen Hochschule Hannover

Die 3. Fachtagung Krankenhaustechnik fand wie die vorherigen wieder an der Medizinischen Hochschule Hannover am 31. 5. und 1. 6. 1976 statt. Die wissenschaftliche Leitung lag in den Händen von Herrn Prof. Dr.-Ing. O. Anna. Mit der Geschäftsführung war Herr PD Dr.-Ing. C. Hartung, mit der Organisation Herr Dipl.-Ing. R. Kerl betraut.

Das Vortragsprogramm „Infektiöser Müll im Krankenhaus“ wurde am Montag, dem 31. 5. 1976, durch Herrn Professor Anna vor etwa 350 Teilnehmern eröffnet. Angesprochen und erschienen waren:

- Bedienstete der für Krankenhäuser zuständigen Gesundheits-, Finanz- und Baubehörden,
- Leiter der Verwaltungen und technischen Abteilungen von Krankenhäusern,
- Beauftragte für Hygiene, Umweltschutz und Entsorgung in Krankenhäusern,
- Architekten, Planer und Hersteller.

23 Herren der zuständigen Ministerien, Zulassungs-, Aufsichts- und Baubehörden, Leiter und Techniker aus Krankenhäusern, Planer und Hersteller referierten. Die anschließenden, langen Diskussionen spiegeln das außerordentliche Interesse der Teilnehmer an diesem nicht nur im Krankenhaus noch immer unbefriedigend gelösten Problem wider.

Die Themenkreise waren:

- Allgemeine Fragen der Beseitigung von infektiösem Müll,
- Planung von und Betriebserfahrungen mit Müll-beseitigungsanlagen in Krankenhäusern, speziell an der Medizinischen Hochschule Hannover,
- ausgeführte Anlagen und Konzepte.

Im Anschluß an den Festvortrag „Infektion und Krankenhaus“, der von Herrn Professor Drescher, Medizinische Hochschule Hannover, am Montagabend gehalten wurde, hatten die Referenten der Tagung sowie Gäste der verschiedenen Hochschulen, Behörden, Ministerien, der Hauptstadt Hannover und die Presse auf einem Empfang Gelegenheit zu einem weiteren Informationsaustausch.

11 einschlägige Firmen stellten in Kurzvorträgen Ihre Anlagen und Konzepte vor; 8 unter ihnen vertieften ihre Ausführungen in einer Ausstellung.

Die auf dieser Tagung gehaltenen Vorträge lagen bereits zu Beginn der Tagung gebunden vor und können in begrenztem Umfang von der Abteilung für Biomedizinische Technik speziell Krankenhaustechnik zum Preis von DM 30,— bezogen werden.

MHH, Abt. Biomedizinische Technik und Krankenhaus-technik, Postfach 320, 3000 Hannover-Kleefeld. M 59

Wien: Tagung Strahlungsschutz

Der Verband für med. Strahlenschutz in Österreich hält am Samstag, dem 16. Oktober 1976, im Hörsaal der med.-techn. Schule des Allgemeinen Krankenhauses in Wien eine Fortbildungstagung unter dem Thema

„Aufgaben des Strahlungsschutzbeauftragten“

ab.

Nähere Auskünfte erteilt Dr. Franz Holeczke, Embelgasse 52, A-1050 Wien, Telefon: 55-49-08 M 60

Neues aus Forschung und Industrie

Die hier publizierten technischen Daten und Qualitätsausagen beruhen auf Angaben der Hersteller bzw. der Vertriebsfirmen. Bei Anfragen bitten wir auf die Veröffentlichung in der Zeitschrift „BIOMEDIZINISCHE TECHNIK“ hinzuweisen. Redaktion: Dipl.-Ing. H. v. Nettelhorst am Fachgebiet Biomedizinische Technik der Technischen Universität Berlin 1000 Berlin 10, Dovesstraße 6

Flüssigkeits-Szintillationszähler mit Microprocessor

Beckman Instruments stellt auf derACHEMA 76 eine neue Serie von Flüssigkeits-Szintillationszählern vor — die Modelle LS-8000/9000.

Das Herz der Geräte ist ein Microprocessor, der die gesamte Steuerung übernimmt. Im Gedächtnis des Microprozessors sind zehn Standard-Anwenderprogramme gespeichert — über eine Tastatur kann der Operator alle Geräte- und Zählkanal-Parameter eingeben. Ein graphisches Display zeigt dem Benutzer in welcher Reihenfolge die Meß-Parameter eingegeben werden müssen. Hiermit wird größtmögliche Betriebssicherheit, auch schon nach kurzer Einarbeitungszeit, ermöglicht. Das Spitzenmodell, LS-9000, liefert fertig gerechnete DPM-Werte und RIA-Kurven. Daneben besitzen diese Geräte eine Reihe neuer und verbesserter anwenderorientierter Eigenschaften: Eine verbesserte Standardisierungsmethode für einen großen dynamischen Quench-Bereich, automatische Selbst-Kalibrierung, Chemolumineszenz-Erkennung und -Messung, Multi-Using-Betrieb, etc. Die Datenausgabe erfolgt wahlweise über Drucker, Teletype-Schreibmaschine oder die neue, leise Texas Instruments Silent 700.

Mit dieser neuen Entwicklung stellt Beckman den Anwendern eine Geräteserie zur Verfügung, die modernste Technik mit optimalem Bedienungskomfort verbindet.

Beckman Instruments GmbH, Frankfurter Ring 115, 8000 München 40, K. Bühler, Tel. 089/38 87 27 47

N 346

Röntgen-Scanner für Mehrkanal-Röntgenspektrometer

Präzisions-Röntgen-Goniometer mit fokussierenden Kristallen — Erweiterter Anwendungsbereich des Mehrkanal-Röntgenspektrometers

Die Mehrkanal-Röntgenspektrometer MRS 300 und MRS 301 von Siemens arbeiten nach dem Prinzip der Röntgen-Fluoreszenzanalyse und eignen sich damit

INFLUENCE OF DIFFERENT BUFFER SYSTEMS ON THE ACCURACY OF THYROID HORMONES DETERMINATION H. Sourgens and F. Aenstoots

Recently we reported about the successful separation of bound and free T_4 and T_3 with Polyethylene-glycole (PEG), using bovine γ -globuline as a tracer for precipitation, as initially proposed by B. Desbuquois and G. D. Aurbach (J. Clin. Endocr. 33, 732, 1971). We now investigated the influence of different buffer systems on the precipitation, evaluating the role of bovine γ -globuline. The following results were obtained: Barbitol-buffer containing 0.13 HSA proved to be the ideal buffer system for both RIA's and can be used with or without bovine γ -globuline; barbitol-buffer containing 0.13 BSA failed in the T_3 -RIA. This is not due to the separation method used as it has been reported by W. A. Ratcliffe et al. (Ann. Clin. Biochem. 11, 224, 1974) but depends on the buffer system. Tris-buffer can be used in the T_4 -RIA without γ -globuline, otherwise a high sensitivity against variations in the protein concentration results. Phosphate-buffer is not suitable for the RIA of thyroid hormones. We only obtained results in using γ -globuline as tracer for precipitation, but the high values found for control-serum indicate incomplete separation; without γ -globuline precipitation did not occur.

Institute of Pharmacology and Toxicology,
University of Münster, Westring 12, D 4400
Münster

PROSTAGLANDINS AS MEDIATORS OF HYPERCALCAEMIA ASSOCIATED WITH THE VX_2 -CARCINOMA IN THE RABBIT. H.U. Seyberth, O. Delz, A. Hough, W.C. Hubbard, L.G. Reisz, and J.A. Yates

It is thought that secretion of prostaglandin E_2 (PGE_2) by the tumor is responsible for the hypercalcaemia in the VX_2 -carcinoma bearing rabbit, although there was no increase in plasma immunoreactive PGE_2 (Voelkel et al, Metabolism 24: 973, 1975). We measured with mass spectrometric methods a more stable circulating PGE_2 metabolite, 11 α -hydroxy-9,15-diketo-prost-5-enoic acid (15-keto- PGE_2) in addition to the plasma level of PGE_2 before and after tumor transplantation during the development of hypercalcaemia and stimulated bone resorption which was assessed by counting the osteoclast in the diaphyseal cortex of sacrificed rabbits. The results (mean $\pm$ SD) are shown below (n=5-6).

	control	1. week	2. week	3. week	4. week
Serum Ca^{++} (mg %)	15.0	16.0	17.5*	18.2*	17.6*
Osteoclast (per mm)	± 0.7	± 0.7	± 1.5	± 2.1	± 2.7
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	0.3	-	1.7*	2.1*	1.6*
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	± 0.3	-	± 0.8	± 0.4	± 0.4
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	± 0.16	0.80*	4.3*	-	43.6*
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	± 0.09	± 0.42	± 1.9	-	19.6*
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	± 0.15	-	0.22	-	0.19
15-keto- PGE_2 (pg/ml)	± 0.07	-	± 0.07	-	± 0.08

* $p < 0.01$ $\rightarrow$ detection limit: 0.10 ng/ml

Treatment of a separate group of rabbits (n=5) with indomethacin (20 mg/kg) caused a concomitant drop in serum calcium and 15-keto- PGE_2 from 20.6 $\pm$ 2.2 to 17.0 $\pm$ 3.3 mg% and from 9.7 $\pm$ 5.3 to 3.7 $\pm$ 2.4 ng/ml, respectively. Although 15-keto- PGE_2 was less potent in vitro than PGE_2 with respect to calcium release from fetal bone (lowest effective concentrations are 2x10⁻⁹M and 10⁻⁸M, respectively), it seems possible that more stable metabolites of PGE_2 could be circulating mediators of chronic bone resorption.

Universitätskinderklinik, D 69 Heidelberg, Im Neuenheimer
feld 150
Dept. of Pharmacology, Vanderbilt Univ., Nashville, TN USA

CALCIUM MOVEMENTS IN DOG EXOCRINE PANCREAS: INFLUENCE OF SECRETIN AND PANCREOZYMIN Ch. Steffen and J.G. Schindler

The solubility of calcium in pancreatic juice and hence the formation of pancreatic stones is influenced by the concentrations of protein and bicarbonate. As secretin raises bicarbonate and pancreozymin enzyme output, total calcium and ionized calcium were measured under stimulation with these hormones in pure dog pancreatic juice. Secretin-stimulated juice shows low protein (1 mg/ml) and calcium concentrations (0.4 - 0.7 mval/l). Pancreozymin induces a concomitant rise in protein (20 - 30 mg/ml) and calcium (2.3 - 2.6 mval/l). Pancreozymin-induced calcium secretion is thought to be of acinar origin as is demonstrated by excretion kinetics of 45-calcium. Under secretin in 45-calcium closely follows serum kinetics with Q juice/serum of 0.1. Pancreozymin fails to augment 45-calcium excretion when injected 10 to 30 min after application of the label. 6 hours later the same stimulus raises 45-calcium in the juice (Q = 0.5).

Ionized calcium as measured with a new ion selective electrode (J.G. Schindler, W. Riemann, Biomed. Technik 20, 76 - 77, 1975) with continuous registration is 0.2 mval/l under secretin and rises to 0.3 mval/l after pancreozymin. The hypothesis that calcium partially enters the juice via an extracellular route is discussed on the basis of excretion of marker substances of extracellular space.

Department of Pharmacology, University of Marburg,
Lahnberge, D 3550 Marburg

STUDIES ON THE DEPENDENCE OF BILE FLOW ON EXTRACELLULAR Ca^{++} H. Krell, H. Hoeke, and E. Pfaff

Isolated rat liver was perfused hemoglobinfree, according to R. Scholz, and its bile flow studied as a function of the Ca^{++} concentration in the perfusion medium. In this model, bile flow was Ca^{++} dependent and could be stimulated by taurocholate and by ouabain. The secreted bile had a physiological composition. Without supplementing the medium with bile salts, bile flow continuously decreased from about 0.4 to 0.2 μ l/min x g liver within 3 h. Below 1 mM Ca^{++} it steadily diminished with decreasing Ca^{++} concentrations to almost complete cessation. Between 0.02 and 0 mM Ca^{++} , however, it suddenly rose to 8 to 10 times the normal values (from 0.3 to more than 2 μ l bile/min x g liver). This bile no longer contained bile acid nor bilirubin. If 1 mM Ca^{++} was immediately added, bile flow - but not bile composition - was normalized, whereas Ca^{++} added later only slowly reduced bile flow. The stimulated bile flow was in part energy dependent, pointing to an activation of the canalicular Na^{+}/K^{+} -ATPase. This probably results from the increased Na^{+} content of the cells at low extracellular Ca^{++} as has been shown for isolated liver cells. Under conditions of low Ca^{++} , cellular bile acids were released very fast into the perfusion medium. It is possible that the intracellular Na^{+}/K^{+} ratio directly governs the bile acid distribution, so that its decrease is responsible for bile acid release. This depletion appears to occur via the sinusoidal side of the plasma membrane, since studies with ¹⁴C-sucrose and ¹⁴C-inulin did not support passage via the canalicular side and leaky tight junctions.

Department of Toxicology, University of Tübingen, D-7400
Tübingen, Wilhelmstr. 56

Deutsche Pharmakologische Gesellschaft

Abstracts
of the 18. Spring Meeting

March 16-18, 1977, Mainz

Offprint from
Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology
Supplement II to Vol. 297 1977



Springer International

Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit calciumselektiver
Disk-Elektroden mit elektrisch geladenen und neutralen
Liganden bei anaeroben Serummessungen

Maier, H., Röckel, A., Heidland, A., Schneider, D., Steffen, Ch.,
Aziz, O., Dennhardt, R., Lindt, H.-O. und Schindler J.G.

Medizinische Klinik der Universität Würzburg (Abt. Nephrologie)

Medizinische Poliklinik der Philipps-Universität Marburg/Lahn

Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

Institut für Pharmakologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn

Summary. Anaerobically prepared serum samples from healthy subjects were simultaneously analysed for Ca^{++} in a flow-through-system of three ion selective disc-electrodes (electrochemical multimeasurementsystem). Two of the sensors contained electrically charged ligands, the third contained a neutral carrier. With neutral carriers an improvement of performance was noted in that there was a large increase in selectivity toward H^- and NH_4^- -ions and a distinct enhancement of reproducibility.

Key words: Calciumselective disc-electrodes, electrochemical multimeasurementsystem, ionized serum-calcium

Zusammenfassung. Anaerob gewonnene Serumproben von gesunden Probanden wurden simultan mit drei zu einem System verbundenen ionenselektiven Scheiben-Elektroden im Durchfluß (elektrochemisches Multimeßsystem) auf ihren Ca^{++} -Gehalt untersucht. Zwei der Sensoren enthielten elektrisch geladene Liganden, der dritte einen neutralen Carrier. Verwendung von neutralen Liganden in ionenselektiven Elektroden führt zu einer erheblichen Steigerung der Selektivität gegenüber H^- und NH_4^- -Ionen sowie einer deutlichen Verbesserung der Meßwertstabilität, Reproduzierbarkeit und Anzeigegeschwindigkeit.

Kennworte: Calciumselektive Disk-Elektroden, elektrochemisches Multimeßsystem, ionisiertes Serum-Calcium

Kolumnentitel: Calciumselektive Disk-Elektroden

Die Bestimmung des ionisierten Calciums hat eine erhebliche Bedeutung für die klinisch-chemische Analytik (3,4,11). Spätestens mit den klassischen Versuchen von McLean und Hastings (7) am isoliert schlagenden Froschherzen wurde klar, daß die Ca^{++} -Aktivität und nicht die -Konzentration als entscheidender Parameter für viele physiologische Regulationsmechanismen zu betrachten ist.

Neben der Schwierigkeit, Verschiebungen des pH-Wertes bei der Serumgewinnung im Hinblick auf das konkurrierende Verhalten von Protonen und Calciumionen bezüglich der freien Valenzen der Proteine zu vermeiden, kann die ungenügende Diskriminierung von Protonen gegenüber Calciumionen elektrisch geladener Liganden (15,16,17,20) bei Eichlösungen mit niedrigen pH-Werten eine Meßwertverschiebung bedingen. Eine Renaissance calciumselektiver Elektroden bahnt sich nach der Synthese eines elektrisch neutralen Modell-Carriers (1) an, dessen Leistungsfähigkeit die bisherigen elektrisch geladenen Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren übertrifft (16,20).

Technologie

Die Messungen wurden mit Hilfe einer verkleinerten Version des elektrochemischen Multimeßsystems zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase (20) durchgeführt (Abb. 1), das mit drei verschiedenen calciumselektiven Sensoren hinsichtlich ihrer aktiven Phasen bestückt war. Das Meßsystem ist umgeben von einem Metallrahmen mit Abschirmungsaufgaben im Sinne eines Faraday-Käfigs. Es enthält würfelförmige Isolierkörper mit prominenten Dichtflächen. Das Dach der beiderseits eingefräßten, wannenförmig abgeflachten Durchflußkammern bildet die mit einem metallischen Festkontakt für die Potentialableitung versehene Membran der Disk-Elektrode. Den Festkontakt sichert der Acrylglassmantel des Platindrahtes. Mittels eines Drehmomentschlüssels wird die Stirnfläche des Elektrodenkörpers aus PTFE dichtend gegen den Rand der Durchflußkammer angezogen. Strömungsgünstige Kanalführung und Durchflußkammer sowie konkave Elektrodenoberflächengestaltung vermeiden elektrokinetische Potentiale bei wechselnden Flußraten. Der auswechselbare Stromschlüsselkontaktstecker ist mit einer mikrokapillären Kontaktzone zwischen Meß- und Bezugslösung (3 M KCl) in Form eines PTFE-Stopfens mit Mikrokerbe versehen.

Bei der Herstellung der Disk-Elektroden werden ionenselektive Kunststoffe zu einer Membran ($\phi = 2 \text{ mm}$) vergossen, die nach Lösungsmittelverdunstung (z.B. Cyclohexanon) auf dem Acrylglasmantel des Pt-Drahtes verankert ist und aus den Membrankomponenten von Matrix und aktiver Phase besteht (16,18). Für den Fall der hier verwandten Ca^{++} -selektiven Disk-Elektroden wurden elektrisch geladene Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren einem synthetischen, elektrisch neutralen Modell-Carrier (Abb. 2) gegenübergestellt (Tab. 1). Die Selektivitätsverhältnisse von Meß- zu Störionen (K_{M-S}) als quantitative Elektrodenkennzahlen wurden nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität (3,16) bestimmt. Die Berechnung der Aktivitätskoeffizienten erfolgte nach der Debye-Hückel-Theorie (3,16) unter Verwendung der Kiellandschen Formel (3,16).

Methodik

Die Blutentnahme wurde bei liegenden, nüchternen Probanden im Alter von 18 - 40 Jahren vorgenommen, bei denen Gesamteiweiß, Albumin, pH und pCO_2 im Normbereich lagen. Das Gesamtcalcium wurde mittels Atomabsorptionsspektrophotometrie (Beckman) bestimmt.

Die Serumgewinnung erfolgte anaerob mit zusatzfreien Monovetten[®] der Fa. Sarstedt nach Maier (6). Das Restvolumen der benutzten Monovetten wird zuvor auf 2-3 % verringert und mit H_2O gefüllt. Nach der Blutabnahme wird der Spritzenstempelgriff herausgeschraubt und so entsteht ein Zentrifugengefäß, in welchem die Blutprobe, falls sie nicht sofort verarbeitet wird, bei 4°C über 24 h ohne wesentliche Ca^{++} -Veränderungen gelagert werden kann (6). Eichlösungen und Seren werden bei 20°C mit einer Rollerpumpe (Fa. Holter, USA) über die Sensoren und erst nachfolgend über die Stromschlüsselkontaktzone der Referenzelektrode durch die Meßkammern mit einer Flußrate von 0,03 - 0,05 ml/min gesaugt, so daß eine Verunreinigung des Meßgutes durch den herausdiffundierenden Bezugselektrolyten vermieden wird.

Die Eichlösungen enthielten 1,0, 2,0 und 4,0 mval Ca/l bei einem Störionenpegel von 150,0 mval Na/l , 4,0 mval K/l und 0,9 mval Mg/l als Chloride ohne weitere Zusätze. Die Meßlösungen wurden täglich mit einem Atomabsorptionsspektrophotometer

(Beckman) auf ihren Calciumgehalt überprüft.

Ionenselektive Disk-Elektroden lassen sich trocken aufbewahren und sind vor Inbetriebnahme mit 10^{-1} M Meßionenlösung bis zur stabilen Anzeige vorzuperfundieren. Steilheitsüberprüfung und wechselweise Perfusion des Meßsystems mit einer der wäßrigen Standardlösungen und einem "pool"-Serum bis zur reproduzierbaren Anzeige der Sensoren entsprechend ihrer Leistungsfähigkeit gehen den Probenmessungen voraus.

Der Signalauswertung dienen Eichdiagramme im semilogarithmischen Maßstab.

Die Meßwertregistrierung erfolgte mit Digitalelektrometern DE 751 der Fa. Fresenius Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. (Eingangswiderstand 10^{15} Ohm).

Ergebnisse

Die Leistungsfähigkeit elektrisch geladener Liganden vom Typ der Organophosphorsäuren und des synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carriers in den verwandten Membransystemen ist in Tab. 1 für Disk-Elektroden dargestellt. Bei pH 2,3 ergibt sich eine Empfindlichkeit dieser Sensoren mit elektrisch geladenen Liganden als aktiver Phase für Protonen von circa 400 - 650 : 1 gegenüber Ca^{++} -Ionen, dagegen eine Querempfindlichkeit des elektrisch neutralen Carriers bezüglich der H^{+} -Ionen von weniger als 10^{-6} . Ähnlich günstige Eigenschaften bezüglich der Diskriminierung von NH_4 -Ionen unterscheiden den neutralen Carrier von den elektrisch geladenen Liganden. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der elektrisch neutrale Carrier für Ca^{++} -Ionen in dem hier verwendeten Membransystem der Disk-Elektroden unter den Bedingungen physiologischer und pathophysiologischer Störionenpegel im Serum näherungsweise ideales Nernstsches Verhalten zeigt.

Die reagentienlose Messung dieses Meßverfahrens ermöglicht nach der Analyse eine Weiterverwendung des Serums für andere Analysen. Für eine Bestimmung des ionisierten Calciums werden circa 30 μl benötigt.

Diskussion

Der Vergleich der drei calciumselektiven Disk-Elektroden ergab deutliche Vorteile für den elektrisch neutralen Modell-

Carrier hinsichtlich Meßwertstabilität, Reproduzierbarkeit bei zwei aufeinanderfolgenden Einzelmessungen mit dazwischengeschalteter Eichung im wäßrigen Medium (Tab. 2), Anzeigegeschwindigkeit, Elektrodensteilheit und Selektivität. Die Lebensdauer der Disk-Elektroden mit dem synthetischen, elektrisch neutralen Carrier betrug bei Messungen in wäßrigen Lösungen mehr als drei Monate, bei Serummessungen 2 - 4 Wochen wegen der sich einstellenden Proteinablagerungen auf der Elektrodenoberfläche. Es ist zu erwarten, daß sich bei Verwendung proteinlösender Spülflüssigkeiten ohne Aggressivität gegenüber der Elektrodenmembran eine Betriebsdauerverlängerung auch bei Serummessungen erreichen läßt.

Die im Serum gemessenen Werte lagen im Mittel für den neutralen Carrier mit 2,62 mval/l um 0,05 bzw. 0,13 mval/l etwas höher als die der geladenen Liganden (Tab. 3). Die gefundenen Werte überschreiten geringfügig die in Tab. 4 zusammengestellten Werte anderer Autoren. Wegen der geringen Probandenzahl und methodischer Unterschiede auch im Hinblick auf den Meßkettenaufbau ist ein unmittelbarer Vergleich nicht statthaft; die Art der Probenaufbereitung ist von erheblichem Einfluß auf das Meßergebnis. Bei Eichlösungen mit pH-Werten unter 5,5 - 6,0 ist mit größeren Potentialverschiebungen der elektrisch geladenen Liganden zu rechnen (15).

Prinzipiell sollte es möglich sein, Disk-Elektroden mit dem synthetischen elektrisch neutralen Modell-Carrier auch zur calciumselektiven Messung in biologischen Flüssigkeiten mit stärkeren Schwankungen des pH-Wertes wie Urin analytisch einzusetzen.

K_{Ca-S}	Membrankomponenten der calciumselektiven Kunststoffe		
	Synthetischer, elektrisch neutraler Ca^{++} -Carrier (I), Na-IPB, o-NPOE, PVC, Cyclohexanon	Ca-Salz der Didecylphosphorsäure in Di-octylphenylphosphonat (15), PVC, Cyclohexanon	Orion-Nr. 98-20-02, PVC, Cyclohexanon
H^+	$<10^{-6}$ (pH 2,30)	$6,50 \times 10^2$ (pH 2,30)	$3,99 \times 10^2$ (pH 2,30)
Na^+	$2,20 \times 10^{-4}$	$9,50 \times 10^{-3}$	$5,63 \times 10^{-3}$
K^+	$5,00 \times 10^{-4}$	$3,00 \times 10^{-4}$	$2,00 \times 10^{-4}$
NH_4^+	$<10^{-6}$	$3,50 \times 10^{-2}$	$3,06 \times 10^{-2}$
Mg^{++}	$5,10 \times 10^{-4}$	$1,80 \times 10^{-3}$	$5,40 \times 10^{-4}$
Ca^{++}	1,00	1,00	1,00

Lit. (20) (19,20) (17)

Membran- I II III
typ

Tab. I

Selektivitätsverhältnisse als quantitative Elektrodenkennzahlen der calciumselektiven Kunststoffe

K_{Ca-S}	Selektivitätsverhältnis Ca^{++} -Störion
Na-IPB	Na-Tetraphenylborat
o-NPOE	o-Nitrophenyloctyläther
PVC	Polyvinylchlorid

Membrantyp	I	II	III
Meßgenauigkeit in wäßriger Lösung	0,1 mV	0,25 mV	0,1 mV
Analysenfehler in wäßriger Lösung	0,8 %	2,0 %	0,8 %
Meßgenauigkeit im Serum	0,1 mV	0,5 mV	0,4 mV
Analysenfehler im Serum	0,8 %	4,0 %	3,2 %

Tab. 2

Analysenfehler in Seren und wäßrigen Elektrolytlösungen

Meßgenauigkeit ± mV
Analysenfehler ± %

Membran- I Typ		II	III
Ca _{ges.}	Ca _{ion.}	Ca _{ion.}	Ca _{ion.}
4,70	2,75 (58,51%)	2,70 (57,45%)	2,70 (57,45%)
4,80	2,80 (58,33%)	2,75 (57,29%)	2,75 (57,29%)
5,24	2,80 (53,44%)	2,70 (51,53%)	2,70 (51,53%)
4,66	2,60 (55,79%)	2,35 (50,43%)	2,55 (54,72%)
4,90	2,70 (55,10%)	2,52 (51,43%)	2,60 (53,06%)
4,60	2,50 (54,34%)	2,45 (53,26%)	2,45 (53,26%)
5,10	2,55 (50,00%)	2,30 (45,10%)	2,50 (49,02%)
4,56	2,45 (53,73%)	2,25 (49,34%)	2,45 (53,73%)
4,41	2,25 (51,02%)	2,20 (49,89%)	2,30 (52,15%)
5,10	2,75 (53,92%)	2,65 (51,96%)	2,70 (52,94%)
x 4,81	2,62 (54,42%)	2,49 (51,77%)	2,57 (53,52%)
s 0,27	0,18 (2,73%)	0,21 (3,67%)	0,15 (2,54%)

Tab. 3

Simultane Messung des ionisierten Calciums mit drei verschiedenen calciumselektiven Disk-Elektroden (Abb. 1 und Tab. 1) in anaerob aufbereiteten Serumproben von 10 Probanden (mval/l)

Autor	$\frac{\text{Ca}^{++}(\text{mval/l})}{\text{ }}$				$\frac{\text{Ca}^{++}/\text{Ca}_{\text{tot}}(\text{rel.}\%)}{\text{ }}$				Methode	Meßgut
	n	$\bar{x}$	s_x	v	$\bar{x}$	s_x	v			
Fuchs et al. (4)	81	2,43	0,09	3,8	49,7	2,20	2,0	Durchflußelektrode		Serum
Moore (9)	19	2,33	0,06	2,6	46,9			Durchflußelektrode		Serum
Paschen (11)	112	2,44	0,10	4,0	52,0	5,0	9,6	Durchflußelektrode		Serum
Arnold et al. (2)	27	2,53	0,32	12,6	53,2	6,94	13,0	Tauchelektrode		Serum
Oreskes et al. (10)	50	2,32	0,22	9,5	43,9	2,20	5,0	Tauchelektrode		Plasma
Hattner et al. (5)	23	1,97	0,08	4,0	40,3			Durchflußelektrode		Serum
Raman (12)	17	2,36	0,30	12,7	49,1			Durchflußelektrode		Serum
Seamonds et al. (21)	84	2,16	0,12	5,6	43,2	6,4	14,8	Durchflußelektrode		Serum

Tab. 4

Zusammenstellung von Meßergebnissen verschiedener Autoren

Teilweise wurden die Werte von mg%, mg/l und mmol in mval/l umgerechnet. Ebenso wurden statistische Größen und die prozentuale Beteiligung des Ca^{++} (ionisiert) am Gesamtcalcium aus Originaldaten berechnet.

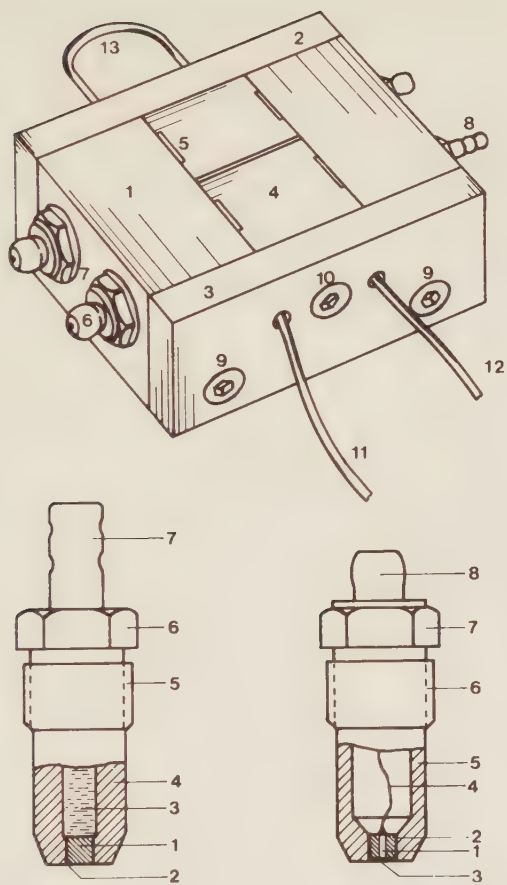


Abb. 1

Abb. 1

Ionenselektives Multimeßsystem (oben) mit Sensoren (unten rechts) und Stromschlüsselkontaktstecker (unten links)

Ionenselektives Multimeßsystem

- 1 Metallrahmen
- 2 Gegendruckplatte
- 3 Andruckplatte
- 4 Parallelepipедischer Isolierkörper
- 5 Meßkammer
- 6 Ionenselektive Disk-Elektrode (Sensor)
- 7 Sechskant
- 8 Stromschlüsselkontaktstecker
- 9 Befestigungsschrauben
- 10 Andruckschrauben
- 11 Zufluß
- 12 Ablauf
- 13 Verbindungsschlauch

Ionenselektive Disk-Elektroden

- 1 Platindraht
- 2 Acrylglasmantel
- 3 Ionenselektiver Kunststoff
- 4 Versilberte, PTFE-isolierte Cu-Litze
- 5 Elektrodenkörper
- 6 Gewinde
- 7 Sechskant für Drehmomentschlüssel
- 8 Steckkontakt

Stromschlüsselkontaktstecker

- 1 PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe
- 2 Stromschlüsselkontaktzone
- 3 Bezugslösung
- 4 Acrylglaswandung
- 5 Gewinde
- 6 Sechskant
- 7 Verbindungsstück

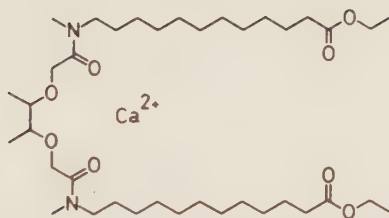


Abb. 2 (1)

Calciumselektiver synthetischer elektrisch neutraler Modell-Carrier
(Prof. Dr. W. Simon/ETH Zürich stellte freundlicherweise den
synthetischen elektrisch neutralen Ca⁺⁺-Carrier zur Verfügung.)

Literaturverzeichnis

1. Ammann, D., Bissig, R., Cimerman, Z., Fiedler, U., Guggi, M., Morf, W.E., Oehme, M., Osswald, H., Pretsch, E., Simon, W.
Synthetic Neutral Carriers for Cations.
Kessler, M., Clark, L.C., Lübbers, D.W., Silver, I.A., Simon, W.: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 22.
2. Arnold, D.E., Stansell, M.J., Malvin, H.H.
Measurement of Serum Ionic Calcium Using a Specific Ion Electrode.
Amer. J. Clin. Path. 49 (1968), 627.
3. Cammann, K.
Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1973).
4. Fuchs, C., Paschen, K., Spieckermann, P.G., v. Westberg, C.
Bestimmung des ionisierten Calciums im Serum mit einer ionenselektiven Durchflußelektrode: Methodik und Normalwerte.
Klin. Wschr. 50 (1972), 824.
5. Hattner, R.S., Johnson, J.W., Bernstein, D.S., Wachman, A., Brackman, J.
Electrochemical Determination of Apparent Ionized Serum Calcium Using a Calcium-Selective Electrode: The Method and Values in Normal Humans and a Comparison to Total Serum Calcium.
Clin. Chim. Acta 28 (1970), 67.
6. Maier, H., Röckel, R., Schmid, G., Heidland, A.
Simplified measurement of ionized calcium in serum using serum-monovettes and ion-selective disc-electrodes. In Vorbereitung.
7. McLean, F.C., Hastings, A.B.
The State of Calcium in the Fluids of the Body.
I. The Conditions Affecting the Ionization of Calcium.
J. Biol. Chem. 108 (1935), 285.
8. Moody, G.J., Thomas, J.D.R.
Selective Ion Sensitive Electrodes.
Watford: Merrow Publishing Co. Ltd., England (1971).
9. Moore, E.W.
Ionized Calcium in Normal Serum, Ultrafiltrates and Whole Blood Determined by Ion-Exchange Electrodes.
J. Clin. Investigation 49 (1970), 318.

10. Oreskes, I., Hirsch, C., Douglas, K.S., Kupfer, S.
Measurement of Ionized Calcium in Human Plasma with a Calcium Selective Elektrode.
Clin. Chim. Acta 21 (1968), 303.
11. Paschen, K.
Die Bestimmung des Calciums und seiner Fraktionen im Serum.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1975).
12. Raman, A.
Determination of Ionized Calcium in Serum with a Calcium Electrode.
Biochem. Med. 3 (1970), 369.
13. Robertson, W.G., Peacock, M.
New Techniques for the Separation and Measurement of the Calcium Fractions of Normal Human Serum.
Clin. Chim. Acta 20 (1968), 315.
14. Robertson, W.G.
Measurement of Ionized Calcium in Biological Fluids.
Clin. Chim. Acta 24 (1969), 149.
15. Ross, J.W.
Calcium-Selective Electrode with Liquid Ion Exchanger.
Science 156 (1967), 1378.
16. Schindler, J.G., Riemann, W.
Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin.
Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-Pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H.
1. Aufl. (1977)
17. Schindler, J.G., Mönnich, A., Riemann, W., Braun, H.E.
Ionenselektive Multi-Disk-Elektrode.
Biomed. Techn., im Druck.
18. Schindler, J.G., Riemann, W.
Scheiben-Elektrode.
Biomed. Techn. 20 (1975), 75.
19. Schindler, J.G., Riemann, W.
Calciumselektive Scheiben-Elektrode für Durchflußmessungen.
Biomed. Techn. 20 (1975), 76.

20. Schindler, J.G.

Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender
Flüssigkeiten und Gase.

Biomed. Techn., im Druck.

21. Seamonds, B., Towfighi, J., Arvan, D.A.

Determination of Ionized Calcium in Serum by Use of an
Ion-Selective Electrode.

Clin. Chem. 18 (1972), 155.

Anschrift der Verfasser:

H. Maier

Medizinische Universitätsklinik

Abteilung Nephrologie

Josef-Schneider-Straße 2

D-8700 Würzburg

Dr. Dr. J. G. Schindler

Institut für Angewandte Physiologie

Philipps-Universität Marburg/Lahn

Lahnberge

D-3550 Marburg/Lahn

Ionenselektive Disk-Elektroden mit neutralen Kationen-Carriern
für die automatisierte Elektroanalyse des Serums

J.G. Schindler, H.K. Dürr, W. Riemann, H.-E. Braun, V. Kellner

Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität
Marburg/Lahn

Medizinische Klinik der Philipps-Universität Marburg/Lahn

Dr. E. Fresenius KG, Forschungsstelle Marburg/Lahn

Elektroanalytische Sensoren eignen sich auf Grund kompakter Bauweise und trägheitsarmer Meßwerterfassung außer für die patientendirekte "bedside"-Analyse (6) zum Einbau in Analysenautomaten.

Ionenselektives Mehrfachmeßsystem

Eine verkleinerte zweikanalige Version zwecks höheren Probandendurchsatzes des elektrochemischen Multimeßsystems zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase (5) wurde als elektroanalytischer Meßkopf zur automatischen Serumanalyse von Ca^{++} , K^+ und Na^+ in einem aus Probentisch, Rollenpumpe und Digitaldrucker bestehenden Meßplatz eingesetzt. Die Signalauswertung erfolgte mit Digital-Elektrometern DE 751 Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H. (Eingangswiderstand 10^{15} Ohm).

Der elektroanalytische Meßkopf besteht aus einem Metallgehäuse zur elektrostatischen Abschirmung, parallelepipedischen Isolierkörpern mit beidseits eingefrästen, wannenförmig abgeflachten Durchflußkammern, die über radiale Kanäle angeströmt werden sowie ionenselektiven Disk-Elektroden (7) als Sensoren und einem auswechselbaren Stromschlüsselkontakt-Stecker (5) mit mikrogekerbtem PTFE-Stopfen als monokapillarer Stromschlüsselkontaktzone (7) für die Ag/AgCl-Referenz-Elektrode. Der metallische Festkontakt aus einem acrylglasummantelten Pt-Draht-Stirnflächenkontakt zur Membranpotentialableitung vom ionenselektiven Kunststoff gestattet abgesehen von einer leckpotentialssicheren Inbetriebnahme eine weitgehend druck- und flußunabhängige Messung.

Disk-Elektroden mit neutralen Kationen-Carriern

Als Träger-Moleküle wurden zur Messung von K^+ (10) Valinomycin (1) sowie von Ca^{++} (5) und Na^+ synthetische elektrisch neutrale Modell-Carrier (1) in den Membransystemen eingesetzt (5,10). Valinomycin und der Ca^{++} -selektive Ligand N,N'-Di[(11-äthoxycarbonyl)undecyl]-N,N',4,5-tetramethyl-3,6-dioxaoctanamid sind hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit Träger-Moleküle par excellence. Die Auswahl des Weichmachers für den ionenselektiven Kunststoff vermag die selektiven Eigenschaften des Träger-Antibiotikums Valinomycin drastisch zu beeinflussen (9). Weich-

macherkombinationen können einer Membranoptimierung dienen (10).

Mit dem in Abb. 1 aufgeführten Na^+ -Carrier (1) im hier verwandten Membransystem wurden insbesondere auf Grund geringer K^+ -Diskriminierung Modellversuche mit den Blutverhältnissen entsprechenden Meß- und Störionenpegeln durchgeführt. Dabei erwies sich der Li-gand als hinreichend selektiv. Aktivitätskoeffizient und Ionenaktivität wurden näherungsweise nach der Debye-Hückel-Theorie unter Verwendung der Kiellandschen Formel (3) berechnet; die Selektivität wurde nach dem Prinzip der Veränderung der Meßionenaktivität bei konstant gehaltener Störionenaktivität (5,8) ermittelt (Abb. 1). Gegenüber Glasmembran-Elektroden ergibt sich eine überlegene Protonendiskriminierung.

Elektroanalyse des Serums

Das ionenselektive Multimeßsystem ist robust und einfach zu bedienen. Die Sensoren lassen sich trocken lagern und werden bei Inbetriebnahme mit 10^{-1} M Meßionenlösung bis zur stabilen Potentialbildung vorperfundierte. Zu Meßbeginn erfolgt ein Wechsel von wäßrigen Standardlösungen mit einem "pool"-Serum bis zur reproduzierbaren Anzeige. Die Eichung erfolgt mit in ihrer Zusammensetzung dem Serum vergleichbaren Elektrolytlösungen. Drifterscheinungen werden über eine Einpunktzwischeneichung mit Eichkurvenparallelverschiebung korrigiert. Nach jeder zehnten Serumbestimmung wurde eine Steilheitsüberprüfung eingeschoben. Die willkürlich gewählte Durchflußgeschwindigkeit betrug vorzugsweise 30-50 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Der elektroanalytische Meßkopf arbeitet mit einer Anzeigege-schwindigkeit von 30 s. Die Fehlerberechnung geht unter Berücksichtigung der logarithmischen Beziehung zwischen Potential und Aktivität (Konzentration) von der Elektrodensteilheit bei gegebener Temperatur aus. Danach läßt sich eine Reproduzierbarkeit des Meßsignals derselben Serumprobe mit dazwischenliegender Eichung durch wäßrige Standards für Ca^{++} (4) von 0,8%, K^+ 0,4% und Na^+ 1,2% erreichen. Bei einer Serienmessung ($n=50$) wurden für $S=95\%$ folgende s-Werte gefunden: Ca^{++} 1,2%, K^+ 0,6% und Na^+ 1,8%. Für zweiwertige Ionen verdoppelt sich naturgemäß der Fehler bei gleicher Potentialabweichung.

Das Konkurrenzverhalten von Calciumionen und Protonen um freie Valenzen der Proteine erfordert zur Bestimmung des ionisierten Calciums eine anaerobe Messung (2,4). Paradebeispiel für diesen Zusammenhang sind die alkalotischen Tetanien durch respiratorische (Hyperventilation) und metabolische Alkalosen (Erbrechen, Bicarbonatschnellinfusionen zur Korrektur schwerer Acidosen). Dagegen gestatten ionenselektive aerob durchgeführte Messungen von Natrium und Kalium einen flammenphotometrischen Vergleich (Tab. 1).

Da bei ständiger Perfusion mit einer bevorrateten Meßionenlösung das System nach Eichung sofort einsetzbar ist, scheint dieses Verfahren unter dem Aspekt einer intensivmedizinischen Anwendung zur patientennahen Elektroanalyse physiologisch wichtiger Kationen einen besonderen Stellenwert einnehmen zu können.

Prof. Dr. W. Simon (ETH/Zürich) stellte freundlicherweise die synthetischen elektrisch neutralen Carrier für Ca^{++} und Na^{+} zur Verfügung.

pNa - Disk - Elektrode (040)

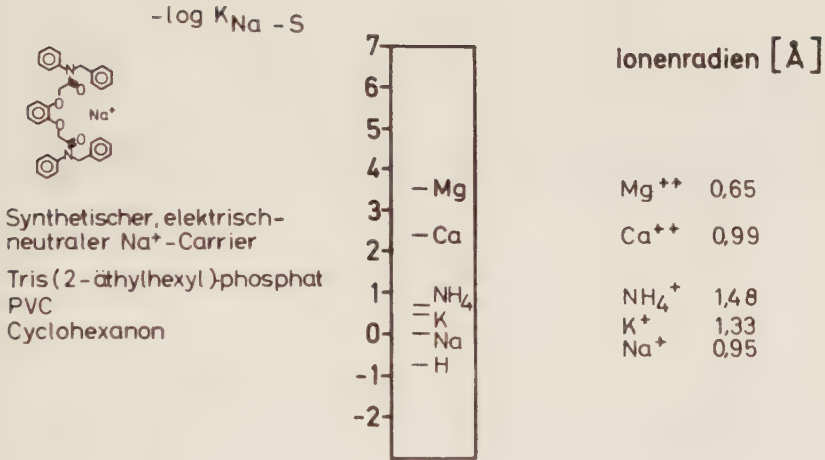


Abb. 1
Selektivitätskonstanten der pNa-Disk-Elektrode (040)

Serum-Nr.	Kalium (mmol/l)		Natrium (mmol/l)	
	Elektrode	Flamme	Elektrode	Flamme
1	4,53	4,4	135,6	135
2	3,77	3,7	136,6	137
3	3,95	4,0	138,2	140
4	3,75	3,9	133,0	135
5	3,81	3,8	134,4	134
6	3,47	3,4	120,3	122
7	4,25	4,1	129,5	128
8	5,04	4,8	133,8	134
9	3,36	3,3	133,3	135
10	3,83	3,7	134,0	135

Tab. 1
Elektroanalytische und flammenphotometrische (Corning EEL)
Vergleichsmessung von 10 Serumproben

Literaturverzeichnis

- (1) Ammann, D., R. Bissig, Z. Cimerman, U. Fiedler, M. Guggi, W.E. Morf, M. Oehme, H. Osswald, E. Pretsch, W. Simon: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: Kessler, M., L.C. Clark, D.W. Lübbers, I.A. Silver, W. Simon: Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien (1976), 22.
- (2) Fuchs, C.: Ionenselektive Elektroden in der Medizin. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1976).
- (3) Kielland, J.: Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. J. Amer. Chem. Soc. 59 (1937), 1675.
- (4) Maier, H., A. Röckel, A. Heidland, D. Schneider, Ch. Steffen, O. Aziz, R. Dennhardt, H.-O. Lindt, J.G. Schindler: Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit calciumselektiver Disk-Elektroden mit elektrisch geladenen und neutralen Liganden bei anaeroben Serummessungen. Res. exp. Med., im Druck.
- (5) Schindler, J.G.: Multimeßsystem für die elektrochemische Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase. Biomed. Techn. 22 (1977), 235.
- (6) Schindler, J.G., R. Dennhardt, W. Simon: Kontinuierliche ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessung am Menschen. Hämoanalyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose. Chimia 31 (1977), 404.
- (7) Schindler, J.G., W. Riemann: Scheiben-Elektrode. Biomed. Techn. 20 (1975), 75.
- (8) Schindler, J.G., W. Riemann: Elektrochemische Multimeßsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H., 1. Aufl. (1977).
- (9) Schindler, J.G., G. Stork, H.-J. Strüh: Über den Einfluß von Weichmachern auf die Charakteristika der Kalium-Valinomycin-Diskelektrode. Im Druck.
- (10) Schindler, J.G., G. Stork, H.-J. Strüh: Optimierung einer Kalium-Valinomycin-Diskelektrode. Im Druck.

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J. G. Schindler
W. Riemann
Institut für Angewandte Physiologie
der Philipps-Universität
Lahnberge
D-3550 Marburg/Lahn

Dr. H.K. Dürr
Medizinische Klinik
der Philipps-Universität
Emil-Mannkopffstraße 1
D-3550 Marburg/Lahn

H.-E. Braun
V. Kellner
Dr. E. Fresenius KG
Forschungsstelle Marburg/Lahn
Schlosserstraße 12
D-3550 Marburg/Lahn

Kontinuierliche ionenselektive und elektrochemisch-enzymatische Direktmessung am Menschen

Hämoanalyse von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose*

J.G. Schindler, R. Dennhardt, W. Simon**

Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin, Institut für Angewandte Physiologie, Philipps-Universität Marburg/Lahn

Anästhesie-Zentrum, Philipps-Universität Marburg/Lahn

Laboratorium für Organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich

Abstract

An electrochemical flow-through system allows a continuous measuring of Na^+ , K^+ , Ca^{++} and glucose-concentrations in the streaming blood of patients. For this bedside-analyser electrochemical sensors and reference junction are exchangeable, the total construction being organized as a building block system. Active phases for ion-selective disc-electrodes such as carrier antibiotics and synthetic neutral carriers are used. The continuous measuring of Na^+ , K^+ , Ca^{++} and glucose during and after intravenous glucose infusion is demonstrated.

Einleitung

Die in der klinisch-chemischen Analytik vorherrschende Messwertgewinnung ist durch aufwendige Probenvorbereitung bisheriger Bestimmungsverfahren gekennzeichnet. Zumindest für den Bereich der Intensivmedizin wird zunehmend die Forderung nach fortlaufender, trägheitsarmer Analytik in Analogie zu den eingeführten und bewährten kontinuierlichen Kontrollen physiologischer Messdaten wie EKG, Puls, Blutdruck, Temperatur sowie Atmung gestellt. Auf diese Weise könnte auch die zeitliche Verzögerung zwischen diagnostischer Messwerterfassung und anschliessender Therapie verkürzt werden. Nicht zuletzt lassen sich physiologische Regulationsvorgänge und deren pathologische Modifikationen nur durch dynamische Messungen zufriedenstellend erfassen. Kontinuierliche Direktanalysen wichtiger Messgrössen im strömenden Blut scheiterten bisher an methodischen Problemen. Elektrochemische Sensoren erfüllen auf Grund ihrer geringen Baugrösse und trägheitsarmen reagentienlosen Funktionsweise die an «bedside-analysers» gestellten Forderungen [1]. Neben der kontinuierlichen Messwerterfassung erscheint es möglich, derartige

Messeinrichtungen in einen Regelkreis zur gesteuerten Therapie zu integrieren [1].

Durch die Entwicklung von elektrochemischen Mehrfach-Durchflusssystemen mit in Reihe geschalteten Sensoren [1, 2, 3], die Verwendung der Träger-Antibiotika Valinomycin und Nonactin als aktive Phasen in ionenselektiven Kunststoffen [1, 2, 3, 4, 5, 6] sowie die auf der Basis von Modellberechnungen

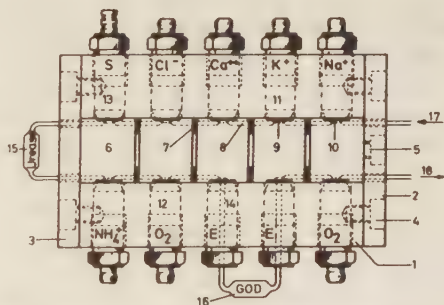
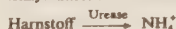


Abb. 1: Elektrochemischer Durchflussanalysator für Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Cl^- , Harnstoff und β -D-Glucose

- 1 Metallrahmen
- 2 Andruckplatte
- 3 Gegendruckplatte
- 4 Befestigungsschrauben
- 5 Andruckschraube
- 6 Parallelepipedischer Isolierkörper
- 7 Dichtflächen
- 8 Radiale Zu- und Abflusskanäle der Messkammer
- 9 Wannenförmig abgeflachte Messkammer (1 μl)
- 10 Selektive Kunststoffmembran des Messfühlers
- 11 Ionenselektive Disk-Elektrode
- 12 pO_2 -Sensor
- 13 Stromschlüsselkontaktstecker
- 14 Enzymkontaktstecker (E)
- 15 Enzymatische Harnstoffsplaltung mit Urease



- 16 Enzymatischer Glucoseumsatz mit Glucoseoxidase (GOD)



- 17 Zufluss
- 18 Ablauf

Erhalten mit Poststempel 4. September 1977

Anschrift der Verfasser:

Dr. Dr. J.G. Schindler, Medizinisches Zentrum für Theoretische Medizin, Institut für Angewandte Physiologie, der Philipps-Universität, Lahnberge, D-3550 Marburg/Lahn

Prof. Dr. R. Dennhardt, Anästhesie-Zentrum, der Philipps-Universität, Robert-Koch-Strasse 8, D-3550 Marburg/Lahn

Prof. Dr. W. Simon, Laboratorium für Organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule, Universitätsstrasse 16, CH-8006 Zürich

[7] erfolgte Synthese [8] elektrisch-neutraler Kationen-Carrier [5] vom Typ der Dioxakorsäure- und Dioxazelaissäurediamide stehen leistungsfähige, ionenselektive Messsysteme für die Hämoanalyse zur Verfügung (Abb. 1).

Messsystem

Disk-Elektroden (Abb. 2, I) mit acrylglasummantelten Pt-Drahtstirnflächenkontakten [1, 3, 9] zu ausgewählten Membransystemen [5] hinreichender Selektivität für Na^+ , K^+ und Ca^{++} wurden in einer verkleinerten Version des elektrochemischen Multimesssystem zur Analyse strömender Flüssigkeiten und Gase [3] bei klinisch-physiologischen Untersuchungen eingesetzt. Die Messfühler werden mit einem Drehmomentschlüssel dichtend gegen die Berandung der $1 \mu\text{l}$ fassenden Durchflussskammern angezogen, die über radiale Kanäle in parallellepipedischen Isolierkörpern angeströmt werden. Die Stabilität elektrolytischer Membrankontakter liegt im Bereich von $0,03 \text{ mV}$ [2], metallischer Festkontakte bei $0,1 \text{ mV}$ [3], dessen vorteilhafte Ausgestaltung in einer weitgehenden Druckunabhängigkeit liegt [1, 3, 9, 10].

Die ionenselektive Multimesstaste unter Einführung eines auswechselbaren Stromschlüsselkontaktsteckers (Abb. 2, III) mit einem mikrogekerbten PTFE-Stopfen für die Ag/AgCl -Referenz-Elektrode (3 M KCl) komplettiert; Bezugs-elektrode und Metallrahmen des Messsystems mit Abschirmungsaufgaben gegenüber elektrostatischen Einflüssen benutzen gemeinsam die Masse des Elektrodenkabels.

Die fortlaufende O_2 -sensitiv-enzymatische Durchflussmessung von β -D-Glucose mit zwei $p\text{O}_2$ -Sensoren erlaubt eine aus anderen Gründen als der hochspezifischen Enzymreaktion resultierende Partialdruckänderung des Sauerstoffes im Messgut mit der ersten $p\text{O}_2$ -Elektrode zu erkennen, während mit der zweiten der Sauerstoffverbrauch nach Zupumpen löslicher Glucoseoxidase (GOD) bei konstanten Enzym-Reaktionszeiten nach partiellem β -D-Glucoseumsatz zu Gluconsäure gemessen wird [11]. Immobilisierte GOD stellt eine wirtschaftlichere Alternative dar [12]. In dieser Hinsicht verdienen auch Schlauchreaktoren mit wandständig fixierten Enzymen besonderes Interesse [13, 14]. In die Reihe O_2 -sensitiv-enzymatischer Messungen lassen sich unter anderem auch die Bestimmung von Harnsäure und Cholesterin einordnen [1]. Die leckstromsicher bei ca. 395°C aufgeschweißten PTFE-Membranen dieser Sensoren (Abb. 2, II) tragen erheblich zu ihrer Betriebssicherheit bei [1, 11].

NH_4^+ -selektiv-enzymatische patientendirekte Harnstoffmessungen sind in Vorbereitung. Dabei kann durch Harnstoffspaltung mit löslicher Urease die hohe Querempfindlichkeit des Carrier-Antibiotikums Nonactin für Kalium auch bei niedrigem Harnstoffspiegel ausreichend kompensiert werden [6].

Über ein Kathetersystem mit extrakorporaler, intravasaler Heparinisierung wurde den Patienten mittels

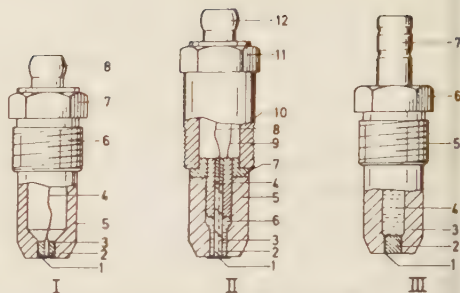


Abb. 2: Sensoren und Stromschlüsselkontakt-Stecker

I	II	III
Ionenselektive Disk-Elektrode	$p\text{O}_2$ -Sensor	Stromschlüsselkontakt-Stecker
1 Ionenselektive Kunststoff-Membran	Leckstromsicher verschweißte PTFE-Membran	Stromschlüsselkontaktzone
2 Pt-Draht	Pt-Kathode	PTFE-Stopfen mit Mikrokerbe
3 Acrylglas-Mantel	Glasmantel	Acrylglas- oder PTFE-Wandung
4 Versilberte, PTFE-isolierte Cu-Litze	Ag-Anode	Bezugslösung (3 M KCl)
5 Elektrodenkörper	Abnehmbare PTFE-Kappe mit Membran	Gewinde
6 Gewinde	Innenlösung ($0,2 \text{ M KCl}$)	Sechskant (SW 8)
7 Sechskant	Abschlussplatte	Schlauchansatz
8 Steckkontakt	Litze (I, 4)	
	Litze (I, 4)	
10 Gewinde		
11 Sechskant		
12 Steckkontakt		

Rollenpumpe kontinuierlich Blut entnommen und der Dialysekammer über ein mit Sperrvorrichtungen versehenes Schlauchsystem (Abb. 3, 1) zugeführt, so dass jederzeit Zwischeneichnungen vorgenommen werden können.

In die kompakte, kassettenförmige Bauform des Gesamtsystems (Abb. 3, 2) ist ein austauschbarer Spiraaldialysator (Abb. 3, 3) mit Sterilfiltrationseigenschaften zur Abtrennung des Blutkreislaufes von der Analysenstrecke einbezogen. Dadurch wird eine Funktionsbeeinträchtigung der Sensoren auf Grund einer Protein-kontamination vermieden, und die unklare Toxikologie der verschiedenen Membrankomponenten ionenselektiver Kunststoffe bedarf keiner Klärung. Die Grundsätze der Sterilität auf der Blutseite bei Rückführung des Blutes bleiben gewahrt; dann allerdings müssen alle Teile des in Abb. 3, 1 dargestellten Messaufbaues von 1–17 steril gehalten werden. Die Antikoagulantienwirkung von Heparin lässt sich vor Reinfundierung mit

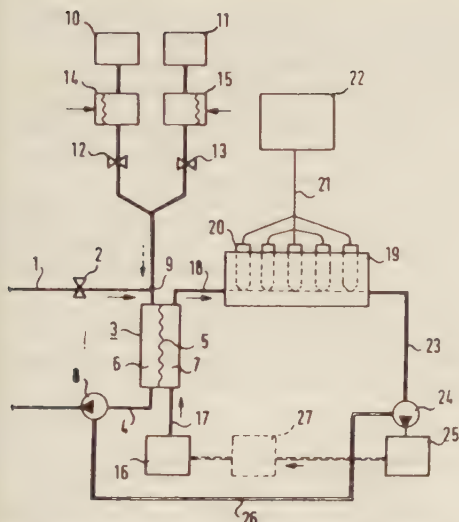


Abb. 3.1: Schema der elektrochemischen Zwischenträgeranalyse Extrakorporaler Blutkreislauf mit Zu- (1) und Abfluss (4) sowie Abklemmvorrichtung (2)

Dialysator (3) mit Sterilfiltrationsmembran (5) zur Abtrennung von Blut- (6) und Analysenseite (7) sowie mechanisch gekoppelten (26) Pumpen (8, 24)

Eichsystem mit Absperrorganen (12, 13), Eichlösungen (10, 11), Gasaustauschern (14, 15) und Einmündung auf der Blutseite (9) zwecks Miteneichung der Dialysemembraneigenschaften
Zwischenträgerstrecke (17, 18, 23) mit Vorratsbehälter (16) und Auffanggefäß (25) sowie eventueller Einführung einer Aufbereitungspatrone (27)

Elektrochemischer Durchflussanalysator (19) mit Sensoren (20), Kabelführung (21) und Auswertsystem (22)

Blutpumpe (8) mit Schlauch (44), Dialysatoranschluss (43) und Abfluss (46)

Kassettensystem, gemeinsames Grundgestell (32)

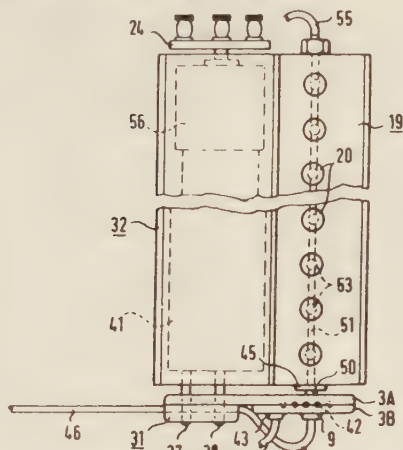


Abb. 3.3: Schnitt nach Linie A-B in Abb. 3.2
Elektrochemischer Durchflussanalysator (19) mit Sensoren (20) in Buchsen (53) zur Kanalbohrung (51) mit Anschlussstutzen (45) und Abfluss (55)

Pumpensystem aus Antriebsaggregat (56) und Getriebewelle (41) sowie mechanisch gekoppelten Rollenpumpen (8, 24) auf gemeinsamem Grundgestell (32)

Auswechselbarer Dialysator als steriler Einmalartikel mit Spiralkanal (42), Blutseite (3B) und Analysenseite (3A), Anschlussstücken (9, 43, 45), Schläuchen (39, 44, 46) und deren Halterung (31) mit Absperrorganen (37, 38)

Protaminchlorid in bekannter Weise antagonisieren. Durch den Relais-gesteuerten Eichvorgang (Abb. 3, 4) werden die Eichlösungen ebenfalls der Blutseite des Dialysators zugeführt und die Austauschigenschaften der Membran berücksichtigt.

Resultate

Das Verfahren ist wenig patientenbelastend; es erlaubt, gleiche Messsysteme bei verschiedenen Probanden einzusetzen. In Abb. 4 sind bei einem Probanden, bei dem alle blutchemischen Parameter im Normbereich lagen, fortlaufende Registrierungen von Na^+ , K^+ und Ca^{++} vor, während und nach einer Infusion einer 10%igen Traubenzuckerlösung (500 ml) dargestellt; gleichzeitig erfolgte eine kontinuierliche O_2 -sensitiv-enzymatische Messung der Blutglucose. Für das bei diesem Versuch verwandte Messsystem betragen die Ansprechzeiten unter Einbeziehung des verkleinerungsfähigen Totraumes – Schlauchsysteme und Dialysekammer – für Elektrolyte ca. 30 s, für Glucose ca. 240 s. Der Infusionszeitraum ist durch Pfeile markiert. Dem Anstieg der Glucosekonzentration auf Werte von 13,6 mmol/l

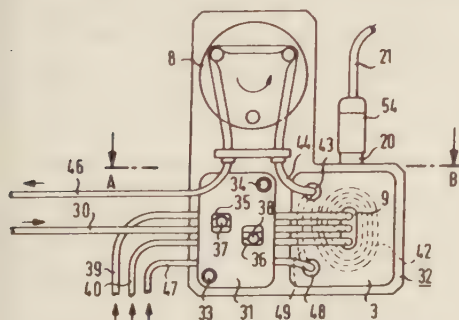


Abb. 3.2: Spiraldialysator mit mechanisch gekoppeltem Pumpensystem und Sperrvorrichtungen zur Zwischeneichung

Spiraldialysator (3) mit Kanälen (42), Anschluss (9) für Messgut (30) und Schlauchleitungen der Eichlösungen (39, 40)

Analysenstrecke mit Anschluss (48), Kanaltück (49) und Trägerflüssigkeit (47) für elektrochemische Sensoren (20) mit Steckkontakten (54) und Kabel (21)

Absperrorgane mit Klemmstiften (37, 38) und Widerlagern (35, 36) zur Steuerung der Messgut- und Eichlösungszufuhr in gemeinsamer Schlauchhalterung (31) mit Zentrierungen (33, 34)

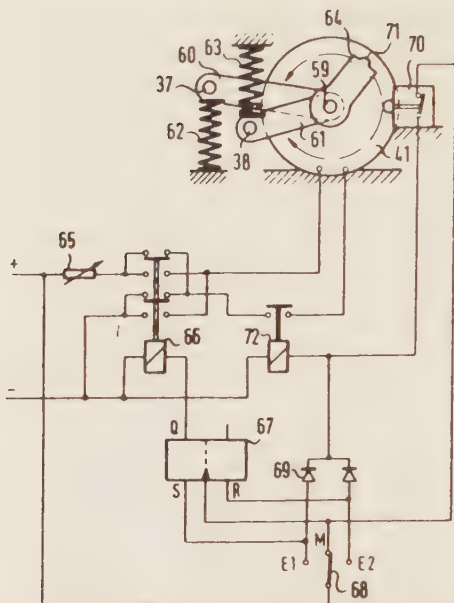


Abb. 3: Steuerung für die Absperroorgane
Absperroorgane aus Klemmstiften (37, 38), Druckfedern (62, 63), Hebelarmen (60, 61), Drehachse (59), Getriebewelle (41), Nocken (71) des Hebels (64)
Elektrische Steuerung mit Mikroschalter (70), Relais (66, 72), Flipflop (67) und dessen Ausgang Q, Steuerschalter (68), Diode (69), Widerstand (65)
Steuerschalterstellungen für Eischlüssigkeiten (E_1 , E_2) und Messlösung (M)

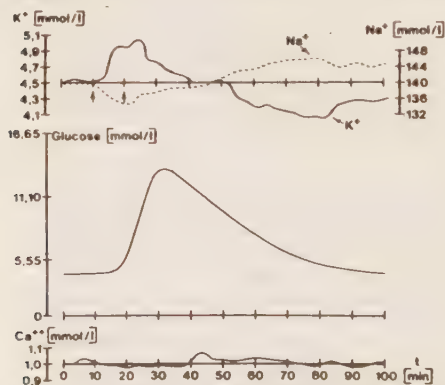


Abb. 4: Kontinuierliche elektrochemische Hämolyse des Menschen von Na^+ , K^+ , Ca^{++} und β -D-Glucose; die beiden Pfeile markieren den Infusionszeitraum für 500 ml einer 10%igen Traubenzuckerlösung. Die Eichung wurde mit in ihrer Zusammensetzung dem Blut vergleichbaren glucosehaltigen Elektrolytlösungen durchgeführt. Dabei erfolgte die Signalauswertung auf Grund einer Korrelation der Messgrößen mit den Konzentrationen der untersuchten Komponenten.

folgt ein exponentieller Abfall als Ausdruck der Regulation der Hyperglycämie durch das in den B-Zellen des endokrinen Pankreas gebildeten Insulins. Dem kurzfristigen Anstieg des Kaliumpegels, der durch osmotische und/oder pH-Veränderungen bedingt sein kann, folgt ein allmählicher Abfall; dieser ist durch den mit der intrazellulären Glucose-Aufnahme gekoppelten Kalium-Einstrom bedingt. Das im unteren Teil der Abbildung dargestellte freie Calcium demonstriert die Messwertstabilität des Gesamtsystems; das ionisierte Calcium des Blutes wird offensichtlich durch Parathormon und Thyreocalcitonin straff reguliert [15]. Das dargestellte Beispiel einer fortlaufenden, elektrochemischen Hämolyse des Menschen zeigt unseres Erachtens, welche grundsätzliche Bedeutung derartiger dynamischen Messungen zukommt.

Literaturverzeichnis

- 1 J. G. Schindler und W. Riemann: Elektrochemische Multi-Messsysteme für Physiologie und Medizin. Koordinierte Forschung des Institutes für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn und der Dr. E. Fresenius Chemisch-pharmazeutische Industrie KG Apparatebau KG in Bad Homburg v.d.H., 1. Aufl. 1977.
- 2 H. F. Osswald, R. E. Dohner, T. Meier, P. C. Meier und W. Simon: *Chimia* 31 (1977) 50.
- 3 J. G. Schindler: *Biomed. Techn.*, im Druck.
- 4 W. Simon, W. E. Morf und P. Ch. Meier: Specificity for Alkali and Alkaline Earth Cations of Synthetic and Natural Organic Complexing Agents in Membranes. In: *Structure and Bonding*, ed.: J. D. Dunitz, P. Hemmerich, J. A. Ibers, C. K. Jørgensen, J. B. Neilands, D. Reinen, R. J. P. Williams: Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 16 (1973) 113.
- 5 D. Ammann, R. Bissig, Z. Cimerman, U. Fiedler, M. Güggi, W. E. Morf, M. Oehme, H. Osswald, E. Preisch und W. Simon: Synthetic Neutral Carriers for Cations. In: M. Kessler, L. C. Clark, D. W. Lübbers, I. A. Silver, W. Simon: *Ion and Enzyme Electrodes in Biology and Medicine*. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien 1976, 22.
- 6 J. G. Schindler, R. G. Schindler und O. Aziz: In Vorbereitung.
- 7 W. E. Morf und W. Simon: *Helv. Chim. Acta* 54 (1971), 2683.
- 8 D. Ammann, E. Pretsch und W. Simon: *Helv. Chim. Acta* 56 (1973) 1780.
- 9 J. G. Schindler und W. Riemann: *Biomed. Techn.* 20 (1975) 75.
- 10 Ch. Rohrbach, G. Andreae, A. Becker, H. Bothe, N. Czaika, H. H. Emschermann, W. Markowski, W. Strogies und G. Wagner: Handbuch für elektrisches Messen mechanischer Größen. VDI-Verlag GmbH, Düsseldorf 1967, 221.
- 11 J. G. Schindler, W. Riemann, D. Sailer, G. Berg und W. Schäl: *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, im Druck.
- 12 M. Nelboeck und D. Jaworek: *Chimia* 29 (1975), 109.
- 13 H. Filippusson, W. E. Hornby und A. McDonald: *FEBS Letters* 20 (1972) 291.
- 14 D. L. Morris, J. Campbell und W. E. Hornby: *Biochem. J.* 147 (1975) 593.
- 15 H. G. Haas: Parathyreoidea. In: W. Siegenthaler: *Klinische Pathophysiologie*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, 2. Aufl. 1973, 306.

Empfangsbescheinigung

Bezug: Ihr Antrag:

Ort: München

Datum: 18. Juni 1977

Eig. Zeichen: 1811-004

 Für den in den Anlagen beschriebenen Gegenstand wird die
 Eintragung in die Rolle für Gebrauchsmuster
 beantragt.

- ③ ☐ Die Anmeldung ist eine Ausscheidung aus der
 Gebrauchsmusteranmeldung G _____
 Als Anmeldetag wird der _____
 für die Ausscheidung beansprucht.

- ④ ☐ Zustellungsbevollmächtigter (wie Anschriftenfeld 1)

Postfach:

Straße, Haus-Nr.: _____

- ① 1 Anmelder wie nachstehend angegeben:

- 2 Anmelder wie Anschriftenfeld 1

- 1.) Dr. Dr. Johannes Georg Schindler, Körnerstr. 12, 8055 München
 2.) Prof. Dr. Claus Auliz, Am Schlierborn 18, 8175 München
 3.) Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie AG,
 Apparatebau AG, Minderer Str. 13,
 6380 Bad Nomburg v. d. H.

- ② 1 Vertreter wie nachstehend angegeben:

- 2 Vertreter wie Anschriftenfeld 1

- ③ Bezeichnung:

"Vorrichtung zur Fortlaufenden elektrochemischen Analyse
 Flüssigkeiten"

- ④ In Anspruch genommen wird die

- 1 Auslandspriorität

- 2 Ausstellungspriorität

- ⑤ Es wird beantragt, die Eintragung und Bekanntmachung auf die Dauer von _____ Monat(en) (max. 15 Monate ab
 Prioritätstag) auszusetzen.

Diese Gebrauchsmusteranmeldung ist an dem durch Perforierung angegebenen
 Tag beim Deutschen Patentamt eingegangen.
 Sie hat das mit „G“ gekennzeichnete Akten-
 zeichen erhalten.

Dieses Aktenzeichen ist gemäß den Anmel-
 debestimmungen bei allen Eingaben und
 Zahlungen anzugeben.

Bitte Hinweise auf der Rückseite
 der zurückbehaltenen Antragsdurchschrift
 beachten!



München, den 14. Juni 1977
101/204

Dr. Dr. J. G. Schindler und Professor Dr. Omar Aziz, Marburg
Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg

Vorrichtung zur fortlaufenden elektrochemischen Analyse
von Flüssigkeiten

Die Neuerung bezieht sich auf eine Vorrichtung zur fortlaufenden elektrochemischen Analyse von Flüssigkeiten mit organischen und anorganischen Bestandteilen, insbesondere im Blut, nach dem Gattungsbegriff des Hauptanspruchs.

Um die anorganischen Bestandteile, insbesondere Ionen und Gase, in körpereigenen Flüssigkeiten (insbesondere Blut) bestimmen zu können, empfiehlt es sich, diese Bestandteile abzutrennen, da die organischen Bestandteile die Messung in vielfacher Weise stören. Hierzu hat sich die Ultrafiltration als vorteilhaftes Verfahren erwiesen, seit geeignete Ultrafiltrationskammern zur Verfügung stehen (O. Aziz u. R. Denhardt: Ultrafiltration of Circulating Blood in vivo. Pflügers Archiv 341 (1973), 347).

Die im Hauptanspruch gekennzeichnete Erfindung hat den Zweck, die Blutanalyse in vivo zu vereinfachen und zu beschleunigen, so daß ggf. fortlaufende Messungen mit geringem räumlichen und zeitlichen Aufwand durchgeführt werden können.

Dr. Hk/Me

Die Erfindung wird nachstehend anhand der einzigen Figur der Zeichnung im einzelnen beschrieben. Die Zeichnung zeigt einen schematischen Längsschnitt der neuen Vorrichtung.

Die Vorrichtung besteht aus einem Analysator 1 und einer daran angebauten, vorzugsweise auf den Analysator aufgesteckten Ultrafiltrationskammer 4. Die Verbindung der beiden Teile ist durch einen Konus 6 des Analysators 1 gegeben, da dieser Konus in eine entsprechende konische Ausnehmung der Kammer 4 eingreift. Die beiden Konen weisen axial einander fortsetzende Kanäle 21, 22 auf.

Die Ultrafiltrationskammer 4 enthält eine Membran 26, durch welche die Kammer 4 in eine Eingangsseite und eine Ausgangsseite unterteilt wird. Die Eingangsseite ist mit Zu- und Abflußkanälen 2 und 3 für die zu analysierende Flüssigkeit verbunden; die Ausgangsseite, die mit beispielsweise sternförmig angeordneten Stützrippen versehen ist, kann über den Kanal 21 mit Unterdruck versorgt werden. Die ganze Ultrafiltrationskammer 4 besteht vorzugsweise aus Kunststoff und ist als einmal verwendbarer Wegwerfartikel konstruiert; sie kann der dank der Konusverbindung 6 mit einem Griff abgenommen und ersetzt werden.

Der Analysator 1 weist einen Grundkörper 5 aus Metall auf, der gleichzeitig zur Abschirmung der Elektroden und somit zur Stabilisierung der Messung beiträgt. Der Grundkörper 5 besitzt eine zylindrische Bohrung, in der Isolierkörper 8, 10, sowie der Konus 6 und eine Abschlußplatte 11 aneinandergereiht sind. Das Ganze wird mittels einer Andruckschraube 12 zusammengehalten.

Die Isolierkörper 8 und 10, sowie der Konus 6 und die Abschlußplatte 11 sind mit axialen Kanälen versehen, die gemeinsam ein fortlaufendes Durchflußsystem bilden und schließlich in

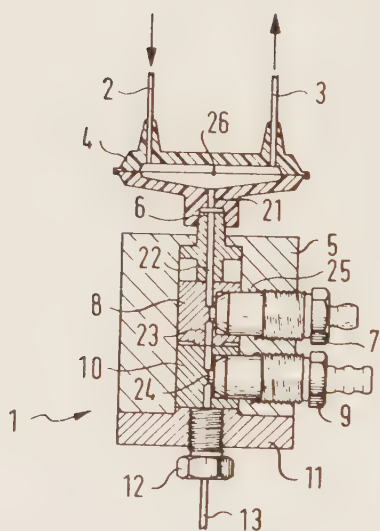
die Abflußleitung 13 münden. An diese ist eine Saugpumpe angeschlossen. In jedem Isolierkörper befindet sich im Zuge einer Durchflußkanals 23 eine Meßkammer 24, die am Grunde einer seitlichen Aussparung 25 des Isolierkörpers mündet. In diese Aussparung ragt ein Einsatzkörper 7 bzw. 9, der weiter hinten mit einem Gewinde versehen und in ein entsprechendes Gewinde-loch des Grundkörpers 5 eingeschraubt ist. Die Stirnflächen der Einsatzkörper 7, 9 liegen dichtend an der Mündung der Meßkammer 24 an. Ferner sind die Isolierkörper 8, 10 mit seitlichen Dichtflächen versehen, die durch die Andruckschraube 12 aneinandergepreßt werden.

Die Einsatzkörper haben im Inneren des Analysators sämtlich im wesentlichen gleiche Abmessungen, so daß sie gegeneinander und gegen andere Einsatzkörper ähnlicher Art ausgetauscht werden können. In der dargestellten Anordnung sind zwei solche Einsatzkörper vorhanden, nämlich eine ionenselektive Scheibenelektrode 7 und ein Stromschlüsselkontaktanschluß 9, über den eine Stromschlüssel Flüssigkeit (Kalilauge) in dosierter Menge dem Ultrafiltrat zugeführt wird. Über ähnliche Einsatzkörper könnten auch andere Flüssigkeiten zur Durchführung chemischer Reaktionen usw. in das Ultrafiltrat eingebracht werden.

Im Betrieb wird der Zufluß 2 der Ultrafiltrationskammer 4 mit dem Blutkreislauf des Patienten verbunden. Das Blut, dessen Gerinnung durch geeignete Maßnahmen verhindert wird, durchströmt die Eingangsseite der Membran 26 und verläßt die Kammer über den Abfluß 3.

Das aus dem Blut abgepumpte Ultrafiltrat gelangt in den Analysator 1 und fließt zunächst an der Scheibenelektrode 7 vorbei, die für eine gewünschte Ionenart selektiv ist. Statt dessen kann auch eine gassensitive Elektrode verwendet werden, die z.B. für den Sauerstoffpartialdruck oder den Kohlendioxidpartialdruck empfindlich ist. Es können auch mehrere solche Elektroden mit einer entsprechenden Anzahl von Isolierkörpern aneinandergereiht sein. Der zur Schließung

des Stromkreises erforderliche Stromschlüsselelektrolyt wird über den Anschluß 9 zugeführt. Wegen unklarer toxikologischer Eigenschaften verschiedener Membrankomponenten elektrochemischer Sensoren wird nach dem Meßvorgang das Ultrafiltrat verworfen.



München, den 14. Juni 1977
101/204

Dr.Dr.J.G.Schindler und Professor Dr. Omar Aziz, Marburg
Dr.E. Friesenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg

S c h u t z a n s p r ü c h e

1. Vorrichtung zur fortlaufenden elektrochemischen Analyse von Flüssigkeiten mit organischen und anorganischen Bestandteilen, insbesondere von Blut, bestehend aus einer Ultrafiltrationskammer mit nachgeschaltetem Analysator für das Ultrafiltrat, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultrafiltrationskammer (4) an den Analysator (1) angebaut ist, daß der Analysator (1) mehrere aneinandergereihte, mit Endanschlußstücken (6, 11) in einem gemeinsamen Grundkörper (5) untergebrachte Isolierkörper (8, 10) aufweist, die je einen Durchflußkanal (23), eine in den Durchflußkanal einbezogene Meßkammer (24) und eine Aussparung (25), an deren Grund die Meßkammer mündet, besitzen und daß in die Aussparungen (25) am Grundkörper (5) befestigte Einsatzkörper (7, 9) einheitlicher Abmessungen hineinragen, deren Stirnfläche dichtend an der Mündung der betreffenden Meßkammer anliegt und die als selektive Elektrode, Abzweigung oder Zuführung für Flüssigkeiten ausgebildet sind.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultrafiltrationskammer (4) auf den Analysator (1) aufgesteckt ist.

3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultrafiltrationskammer eine Membran (26) enthält, die an der Ausgangsseite mit Stützrippen versehen ist.
4. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Isolierkörper (8, 10) mit seitlichen Dichtflächen versehen sind, die durch ein Spannmittel (12) aneinandergepreßt werden.

PATENTANWALT
DR. HEINRICH HERMELINK
8 München 63, Apolloweg 9, Tel. 811 4370

München, den 22. Juni 1977
101/204

An das
Deutsche Patentamt
Zweibrückenstr. 12

8000 München 2

G 77 18 736.1

Dr. Schindler, Dr. Aziz,
Dr. Fresenius...

In der Anlage wird eine neue Seite 3 der Beschreibung über-
reicht. Es wird gebeten, die bisherige Seite 3, in der ein
Fehler stehengeblieben war, hiergegen auszutauschen.


Patentanwalt

Anlage
neue Seite 3
zweifach

die Abflußleitung 13 münden. An diese ist eine Saugpumpe angeschlossen. In jedem Isolierkörper befindet sich im Zuge eines Durchflußkanals 23 eine Meßkammer 24, die am Grunde einer seitlichen Aussparung 25 des Isolierkörpers mündet. In diese Aussparung ragt ein Einsatzkörper 7 bzw. 9, der weiter hinten mit einem Gewinde versehen und in ein entsprechendes Gewindeloch des Grundkörpers 5 eingeschraubt ist. Die Stirnflächen der Einsatzkörper 7, 9 liegen dichtend an der Mündung der Meßkammer 24 an. Ferner sind die Isolierkörper 8, 10 mit seitlichen Dichtflächen versehen, die durch die Andruckschraube 12 aneinandergepreßt werden.

Die Einsatzkörper haben im Inneren des Analysators sämtlich im wesentlichen gleiche Abmessungen, so daß sie gegeneinander und gegen andere Einsatzkörper ähnlicher Art ausgetauscht werden können. In der dargestellten Anordnung sind zwei solche Einsatzkörper vorhanden, nämlich eine ionenselektive Scheibenelektrode 7 und ein Stromschlüsselkontaktanschluß 9, über den eine Stromschlüssel Flüssigkeit (Kaliumchlorid) in dosierter Menge dem Ultrafiltrat zugeführt wird. Über ähnliche Einsatzkörper könnten auch andere Flüssigkeiten zur Durchführung chemischer Reaktionen usw. in das Ultrafiltrat eingebracht werden.

Im Betrieb wird der Zufluß 2 der Ultrafiltrationskammer 4 mit dem Blutkreislauf des Patienten verbunden. Das Blut, dessen Gerinnung durch geeignete Maßnahmen verhindert wird, durchströmt die Eingangsseite der Membran 26 und verläßt die Kammer über den Abfluß 3.

Das aus dem Blut abgepumpte Ultrafiltrat gelangt in den Analysator 1 und fließt zunächst an der Scheibenelektrode 7 vorbei, die für eine gewünschte Ionenart selektiv ist. Stattdessen kann auch eine gassensitive Elektrode verwendet werden, die z. B. für den Sauerstoffpartialdruck oder den Kohlendioxidpartialdruck empfindlich ist. Es können auch mehrere solche Elektroden mit einer entsprechenden Anzahl von Isolierkörpern aneinandergereiht sein. Der zur Schließung

12 Aus dem Anästhesie-Zentrum der Universitätskliniken und dem Institut für Angewandte Physiologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn

Kontinuierliche Messungen am Patienten mit ionenselektiven Disk-Elektroden

R. Dennhardt, J. G. Schindler, O. Aziz, R. Hoffmann und W. Riemann

Kontinuierliche, d. h. dynamische Messungen von blutchemischen Parametern sind immer noch durch methodische Probleme beeinträchtigt. Andererseits können biologische Regulationsvorgänge durch punktuelle Probengewinnung nicht zufriedenstellend erfaßt werden. Die bisher bekannten Prinzipien zur fortlaufenden Messung von ionisierten Bestandteilen des Blutes sind in ihrer Anwendung unbefriedigend.

Es wird im folgenden ein Meßprinzip zur kontinuierlichen Registrierung von Kalzium, Kalium und Natrium vorgestellt. Ionenselektive Disk-Elektroden sind gravitationsunabhängige, elektrochemische Halbzellen, bei denen eine acrylglasummantelte Pt-Draht-Stirnfläche als metallischer Festkontakt zur Membranpotentialableitung vom ionenselektiven Kunststoff verwendet wird. Geringe Baugröße bei kleinstem Probenvolumen und die Möglichkeit einer trägheitsarmen und kontinuierlichen Messung prädestinieren die genannten Sensoren für die Gewinnung von Meßdaten am Patienten. Zur Bestimmung von K^+ wird das Träger-Antibiotikum Valinomycin und von Ca^{2+} ein synthetischer elektrisch neutraler Modell-Carrier in PVC inkorporiert. Die Selektivitätsverhältnisse für K^+ - und Ca^{2+} -selektive Disk-Elektroden wurden bei konstant gehaltener Störionenaktivität unter Veränderung der Meßionenaktivität experimentell bestimmt. Die Berechnung der Ionenaktivität ergab:

$$K_{K - Na} = 1,5 \times 10^{-4} \text{ und } K_{Ca - Na} = 2,2 \times 10^{-4}$$

Bei physiologischen Meßwertschwankungen liegen die Einstellzeiten in Elektrolytlösungen bei 30 sec., für das Gesamtsystem unter Einbeziehung des Totraumes 60 sec. Funktion und Eigenschaften der ionenselektiven Disk-Elektroden werden an Kurven von Intensivpatienten demonstriert. Das dargestellte Meßprinzip erfüllt die langgestellte Forderung einer fortlaufenden Elektrolytüberwachung des Patienten in Analogie zu anderen Parametern wie EKG, Puls, Blutdruck und Atmung.

13 Aus dem Institut für Anästhesiologie der Universität Tübingen

Vergleichende Untersuchungen des Herzzeitvolumens und der systolischen Zeitintervalle bei der Einleitung der Atheranalgesie und der Halothannarkose mit Hilfe der Impedanz-Kardiographie

H. Vontin, L. Lagary und H. Schorer

Manuskript lag dem Verlag bei Drucklegung nicht vor.

Abstracts

XV. gemeinsame Tagung

der Österreichischen Gesellschaft
für Anästhesiologie und Reanimation,

der Deutschen Gesellschaft
für Anästhesie und Wiederbelebung

der Schweizerischen Gesellschaft
für Anästhesiologie und Reanimation
(Société Suisse d'Anesthésiologie
et de Réanimation)

vom 13. bis 17. September 1977
in Genf

zakeeneve77

Zentraleuropäischer Anaesthesie-Kongress 1977
Abstracts



Patentanwalt Dr. H. Hermelink, D-8 München 60, Apolloweg 9

Ihr Zeichen

Ihre Nachricht vom

Mein Zeichen

München,

101/011-Dr.Hk/Du. 28. Oktober 1977

Betr. Deutsche Patentanmeldung P 27 26 450.2
"Elektrode für die elektrochemische Analyse"

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg

Ich bestätige hiermit, daß als Erfinder zu der obengenannten Patentanmeldung dem Deutschen Patentamt gegenüber benannt wurden:

1. Dr. Dr. J.G. Schindler, Arzt und Zahnarzt,
Körnerstr. 12, 3550 Marburg/Lahn
2. Dr. Ing. W. Schäl, Techn. Leiter,
Tannenwaldweg 27, 6380 Bad Homburg

Patentanwalt

München, den 31. Okt. 1977
101/011

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG.,
Bad Homburg

Elektrode für die elektrochemische Analyse

Die Erfindung bezieht sich auf eine Elektrode für die elektrochemische Analyse, insbesondere für Messungen im lebenden Körper.

Ionenselektive, gassensitive und Enzym-Elektroden haben in letzter Zeit für elektrochemische Messungen verschiedener Art, insbesondere in der Physiologie und Pathophysiologie, erhebliche Bedeutung gewonnen. Häufig ist es erwünscht, solche Messungen an genau lokalisierbaren Stellen des lebenden Körpers vorzunehmen. Hierzu müssen die Elektroden als Katheter ausgebildet sein.

In vielen Fällen müssen verschiedene Parameter bestimmt werden, z. B. mehrere Ionenarten, verschiedene Gase oder Kombinationen derselben. Das Einführen mehrerer Katheter gleichzeitig ist aber meistens kaum möglich; auch wenn mehrere Katheter in kurzen Zeitabständen nacheinander eingeführt werden, stellt dies eine große Belastung des Patienten dar.

Es sind Multielektroden entwickelt worden, mit denen verschiedene Parameter gleichzeitig bestimmt werden können; die Unterbringung solcher Multielektroden in einem Katheter nicht zu großen Durchmessers bereitet aber erhebliche Schwierigkeiten. Zudem sind solche Katheter mit Multielektroden sehr kostspielig; insbesondere in der Intensivmedizin muß oft eine ganze Gruppe von Patienten mit solchen Katheterelektroden versorgt und überwacht werden.

Es ist vorgeschlagen worden, zur kontinuierlichen Messung des gelösten Sauerstoffs in Fermenterkulturen die bekannte Platinelektrode nach Clark in zwei Baugruppen zu unterteilen, nämlich in einen meßaktiven Teil mit Kathode und Anode einerseits und in einen Außenkörper andererseits, der die bei dieser Elektrodenart zur Stabilisierung der Sauerstoffdiffusion benötigte Membran trägt (K. Ring, S. Schlecht, W. Eschweiler und J. Kutscher: Eine Elektrode zur kontinuierlichen Messung des Gelöstsauerstoffs (pO_2) in Fermenterkulturen, Archiv für Mikrobiologie Band 65 (1969) Seiten 48 bis 60). Der als Schutzhülle dienende Außenkörper kann im Zuchtungsgefäß mitsterilisiert werden; anschließend wird der aus Kathode und Anode bestehende Meßfühler in den als Schutzhülle dienenden Außenkörper eingeschoben. Die Verbindung zwischen Kathode und Anode geschieht über einen in den Außenkörper eingefüllten Elektrolyten. Die Membran wirkt stabilisierend auf die kontinuierliche Messung und trennt ferner den meßaktiven Teil der Meßanordnung von der Kultur, so daß eine Verschmutzung des Meßfühlers vermieden wird. Ohne die Membran wäre eine stabile Anzeige nicht erzielbar und es könnte keine eindeutige polarographische Meßkurve aufgezeichnet

werden. Zur Abstandshaltung ist die Platinelektrode des Meßfühlers ferner mit einer weiteren Membran überzogen, die in Betriebsstellung unmittelbar der Außenmembran aufliegt. Hierdurch soll die Diffusionsstrecke für Sauerstoff stabilisiert und konstant gehalten werden, so daß die Messung weniger abhängig von der Turbulenz in der Meßlösung wird. Erst die Kombination von Meßfühler und Außenkörper stellt also eine vollständige, funktionsfähige Einheit dar, die nur für die Messung des Sauerstoffpartialdrucks und für nichts anderes geeignet ist.

Der im Hauptanspruch gekennzeichneten Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, wiederholte Messungen gleicher oder verschiedener Parameter im lebenden Körper bzw. in Kulturen durchzuführen, ohne daß jedesmal der Katheter gewechselt werden muß. Hierzu ist erfindungsgemäß die Schutzhülle einer ähnlich wie soeben beschrieben aufgebauten Elektrode als Perikatheter ausgebildet und der in sie einschiebbare Meßfühler stellt bereits für sich eine vollständige in sich abgeschlossene und funktionsbereite Elektrode dar. Auf diese Weise ist es möglich, nicht nur den Sauerstoffpartialdruck, sondern auch andere Parameter wahlweise nacheinander zu messen, indem jeweils ein entsprechender Meßfühler in den liegenden Perikatheter eingeführt wird. Umgekehrt lassen sich mit einem Meßfühler mehrere Patienten nacheinander mit liegendem sterilen Perikatheter überwachen. Mit einem Multimeßfühler ist auch die gleichzeitige Gewinnung verschiedener Meßdaten bei mehreren Patienten nacheinander möglich.

Für den Perikatheter sind zwei Grundtypen denkbar. Für die Verwendung mit gassensitiven Meßfühlern benötigt man eine gasdurchlässige, aber ionenundurchlässige Membran. Bekanntlich zeigen Folien aus Polytetrafluoräthylen (PTFE) und Polyäthylen diese Eigenschaft. Der Meßfühler ist

vorzugsweise mit einer ebensolchen Folie ausgestattet und die beiden Folien liegen unmittelbar aneinander an. So können die Gasmoleküle durch die beiden Folien hindurchdiffundieren und die Meßelektrode erreichen. Bei konstanten Diffusionsbedingungen zwischen dem gashaltigen Substrat, worin sich der Perikatheter befindet, und der Elektrodenoberfläche kann aus der Stromstärke bei einer passenden äußeren Spannung auf die Konzentration der O_2 -Moleküle in dem Substrat und damit auf deren Partialdruck geschlossen werden.

Bei der Verwendung ionenselektiver Meßelektroden müssen die betreffenden Ionen die Membran des Perikatheters durchdringen können. Hierfür geeignete Membranen sind die für niedermolekulare Ionen durchlässigen Dialysemembranen mit Sterilfiltrationseigenschaften. Derartige Membranen sind bekannt.

Der Kontakt von der Innenseite der Membran zur Elektrode des Meßfühlers kann auf flüssigem, gasförmigem oder kombiniertem Wege in bekannter Weise hergestellt werden. Die Dialysemembran läßt sich aber auch für elektrochemisch-enzymatische Messungen verwenden, wenn der Meßfühler eine gassensitive Meßelektrode enthält, der ein Enzym- oder Multienzymsystem vorgeschaltet ist. Dieses Enzymsystem setzt sein Substrat unter Abgabe eines Gases um, das von der gassensitiven Elektrode des Meßfühlers angezeigt wird.

Gegebenenfalls kann das Enzym- oder Multienzymsystem auch der Membran des Perikatheters vorgeschaltet sein, also in unmittelbarem Kontakt mit der Membran stehen. In diesem Falle besteht die Membran des Perikatheters aus einer PTFE-Folie, durch die das von dem Enzymsystem abgegebene Gas

diffundieren kann, so daß es von der gassensensitiven Elektrode des Meßfühlers angezeigt wird. Messungen ohne das Enzymsystem sind dann allerdings nicht mehr möglich.

Es sind auch noch weitere Kombinationen der beschriebenen Grundtypen von Perikatheter und Meßfühler untereinander denkbar. Einige derselben werden nachstehend an Hand der Zeichnung beschrieben.

In der Zeichnung sind

Fig. 1 die schematische Darstellung eines Katheter-elektrodensystems für gassensitive Meßfühler und

Fig. 2 eine entsprechende Darstellung eines Systems für ionenselektive, gassensitive und elektrochemisch-enzymatische Meßfühler.

Im unteren Teil der Fig. 1 ist das Ende des Perikatheters in einer ersten Ausführungsform schematisch im Längsschnitt dargestellt. Der Perikatheter 10 besteht aus einem sterilisierbaren Schlauch 1, der an seiner Stirnseite mit einer Membran 2 abgeschlossen ist. Die Membran besteht hier aus einer PTFE-Folie, deren Rand mit dem Schlauch 1 verschweißt ist.

In den Perikatheter 10 können entsprechend der Gasdurchlässigkeit der PTFE-Folie 2 verschiedene gassensitive Meßfühler eingeschoben werden. Einige Ausführungsbeispiele derselben sind im oberen Teil der Fig. 1 dargestellt.

Der Meßfühler 20 dient zur polarographischen Bestimmung des Sauerstoffpartialdrucks. Er besitzt eine Hülle 3, die mit einer abnehmbaren Kappe 4 versehen ist. Die Kappe 4 ist beispielsweise mit ^{einer} Schraub- oder Steckverbindung versehen. Die Kappe 4 ist mit einer PTFE-Folie 5 verschweißt, die sich nach dem Einschieben des Meßfühlers 20 in den Perikatheter 10 eng an die PTFE-Folie 2 anlegt.

In die Hülle 3 und Kappe 4 ist eine Bezugselektrode 6 aus Silber eingesetzt. In einer Mittelbohrung der letzteren befindet sich ein mit einem Glasmantel 7 umgebener Platindraht 8, der beispielsweise einen Durchmesser von $15\text{ }\mu\text{m}$ hat. Am Ende der Bezugselektrode befindet sich eine Innenlösung 9, beispielsweise aus KCl, die als Elektrolyt dient, um den Stromfluß zwischen Meßelektrode 8 und Bezugselektrode 6 zu ermöglichen. Die äußere Spannung wird der Meßelektrode über eine mit PTFE isolierte, versilberte Kupferlitze 11 und der Bezugselektrode über einen lackisolierten Kupferdraht 12 zugeführt.

Der beschriebene Meßfühler ist völlig in sich abgeschlossen. Wenn er in den Perikatheter 10 eingeschoben wurde, berühren sich die PTFE-Folien 2 und 5, die je etwa $12\text{ }\mu\text{m}$ stark sind, so daß in der Blutbahn od. dgl. gelöste Sauerstoffgase durch die beiden Folien hindurchdiffundieren und in den Bereich der Meßelektrode 8 gelangen können. Wird eine negative Ladung an diese Elektrode gelegt, so werden die an die Elektrodenoberfläche gelangenden Sauerstoffmoleküle reduziert. Aus der Stärke des auftretenden Reduktionsstromes kann auf die Konzentration der Sauerstoffmoleküle und damit auf den Sauerstoffpartialdruck im Blut oder der sonstigen Umgebung der Membran 2 geschlossen werden.

Der Meßfühler 30 ist ähnlich wie der Meßfühler 20 gebaut und dient zur Gasmessung mittels einer Glas-mantelelektrode. Er ist ebenfalls mit einer Hülle 3 umgeben, an die eine Kappe 13 angesetzt ist. Innerhalb der Kappe 13 befindet sich ein Stopfen 14 aus Isolierstoff, z. B. PTFE oder Acrylglas. Er dient zur Halterung einer vollständig mit Glas ummantelten Platinelektrode 15. Der Glasmantel 16 ist in diesem Falle ionenselektiv ausgebildet. Der Stopfen 14 trennt ferner die den Glasmantel 16 umgebende Innenlösung 17 von der Bezugslösung 18; jedoch stehen die beiden Lösungsräume über eine Mikrokerbe des Stopfens 14 miteinander in Verbindung. In der Bezugslösung 18 ist die nicht dargestellte Bezugselektrode untergebracht. Die Zuleitung für die Platinelektrode 15 ist mit 19 bezeichnet. Zur Konstanthaltung der Diffusionsstrecke zwischen Membran und glasummantelter Platinspitze befindet sich zwischen der PTFE-Folie und der Stirnseite des Glasmantels 16 ein dünnes Blättchen 21, das z. B. aus Cellophan, Perlongewebe, Seidenpapier od. dgl. besteht. .

Die im Betrieb durch die Membranen 2 und 5 eindiffundierenden Gasmoleküle führen zu einer pH-Verschiebung im Innenlösungsraum, wodurch das elektrochemische Potential der Platinelektrode 15 verändert wird. Diese Potentialänderung ist also ein Maß für die Konzentration des betreffenden Gases.

Eine stark selektive Gasmessung ist mit dem Meßfühler 40 möglich. Er ist weitgehend ebenso wie der Meßfühler 30 konstruiert, jedoch befindet sich hier zwischen Innenlösung 17 und Platinelektrode 15 ein Kunststoffplättchen 22, das mit einer ionenselektiven organischen Substanz getränkt ist.

Wenn z. B. NH_3 -Konzentrationen gemessen werden sollen, versetzt man den Kunststoff vor dem Auswerten mit einer Lösung von Valinomycin in Diphenyläther oder Nonactin-Monactin in Tris-(2-äthylhexyl)phosphat. Die eindiffundierten NH_4^+ -Ionen reagieren mit diesen Substanzen und führen so zu einer Potentialänderung der Meßelektrode 16.

Das in Fig. 2 dargestellte Katheterelektrodensystem ist vor allem für ionenselektive Messungen bestimmt. Der Perikatheter 50 besteht wieder aus einem schlauchförmigen Mantel 1, ist aber diesmal mit einer für Ionen u. niedermolekulare Substanzen durchlässigen, aber den Bedingungen der Sterilfiltration entsprechenden Membran 23 abgeschlossen. Solche Membranen werden als Dialysemembranen bezeichnet. Sie bestehen z. B. aus Cellophan.

Einige Vorschläge für hiermit verwendbare Meßfühler sind lediglich beispielsweise im oberen Teil der Fig. 2 dargestellt.

Der Meßfühler 60 ist ebenso aufgebaut wie der Meßfühler 40 in Fig. 1. Der einzige Unterschied besteht darin, daß hier statt der gasdurchlässigen Membran 5 eine Dialysemembran 24 am Ende der Kappe 13 befestigt ist. Die Funktion der Meßelektrode ändert sich dahingehend, daß die Anzeige ionenselektiv wird.

Der Meßfühler 70 in Fig. 2 entspricht weitgehend dem Meßfühler 30 in Fig. 1. Der wesentliche Unterschied besteht wieder darin, daß statt der PTFE-Folie 5 eine Dialysemembran 24 die Kappe 13 stirnseitig abschließt. Ferner endet der Glasmantel 16 in größerem Abstand von der

Membran 24, so daß sich ein größerer Innenlösungsvorrat 17 zwischen beiden befindet. Die Elektrode ist nicht mehr gassensitiv, sondern ionenselektiv. Die Art der angezeigten Ionen hängt von der Selektivität des Glasmantels ab.

Die Meßfühler 80 und 90 stellen zwei Beispiele für elektrochemisch-enzymatische Meßvorrichtungen dar.

Der Meßfühler 80 dient zur prämembranösen Umsetzung mittels einer gassensitiven Elektrode vorgeschalteten Enzym- oder Multienzymsystems. Die Elektrode ist identisch mit dem Meßfühler 40, jedoch ist der PTFE-Membran 26 des Endokatheters ein Enzym- oder Multienzymsystem vorgelagert. Wenn der nachzuweisende Stoff durch die Membranen 23 und 24 in das Enzym- oder Multienzymsystem 25 eindiffundiert ist, setzt dieses sein Substrat unter Abgabe eines Gases um, das nach Durchdringen der PTFE-Folie 26 von der gassensitiven Meßelektrode 16 durch Potentialänderung angezeigt wird.

Der Meßfühler 90 ist zur postmembranösen Messung bestimmt. Bei der amperometrischen postmembranösen Bestimmungsmethode einer Substanz führt ein Elektronenakzeptor das Enzym 25 in die oxidierte Form zurück, wobei dieses an der Pt-Elektrode 15 oxidiert wird.

Fig.1

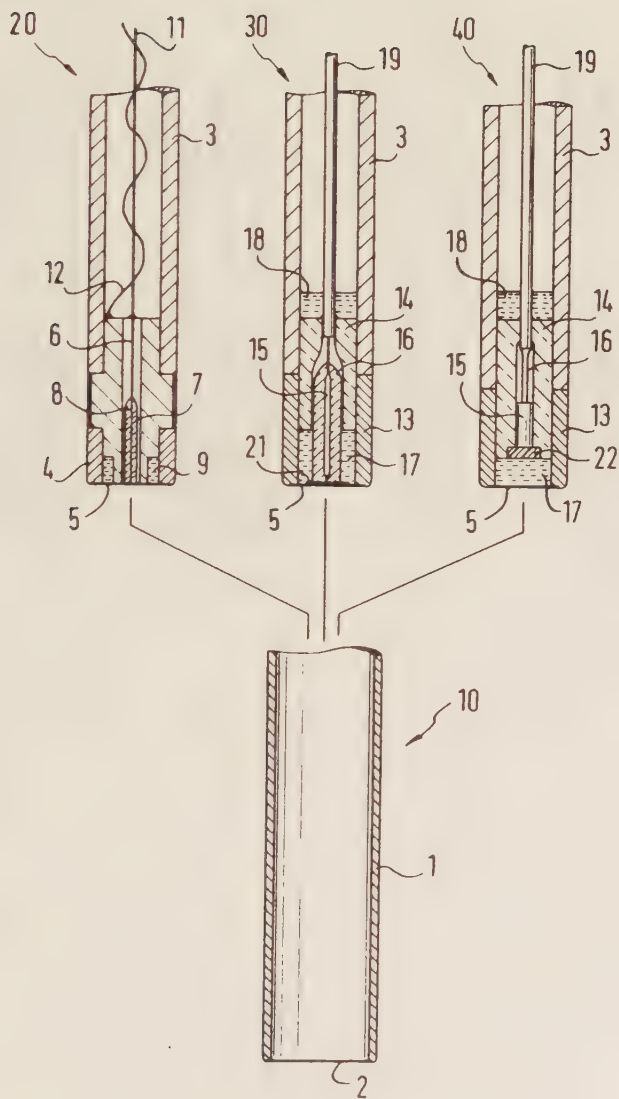
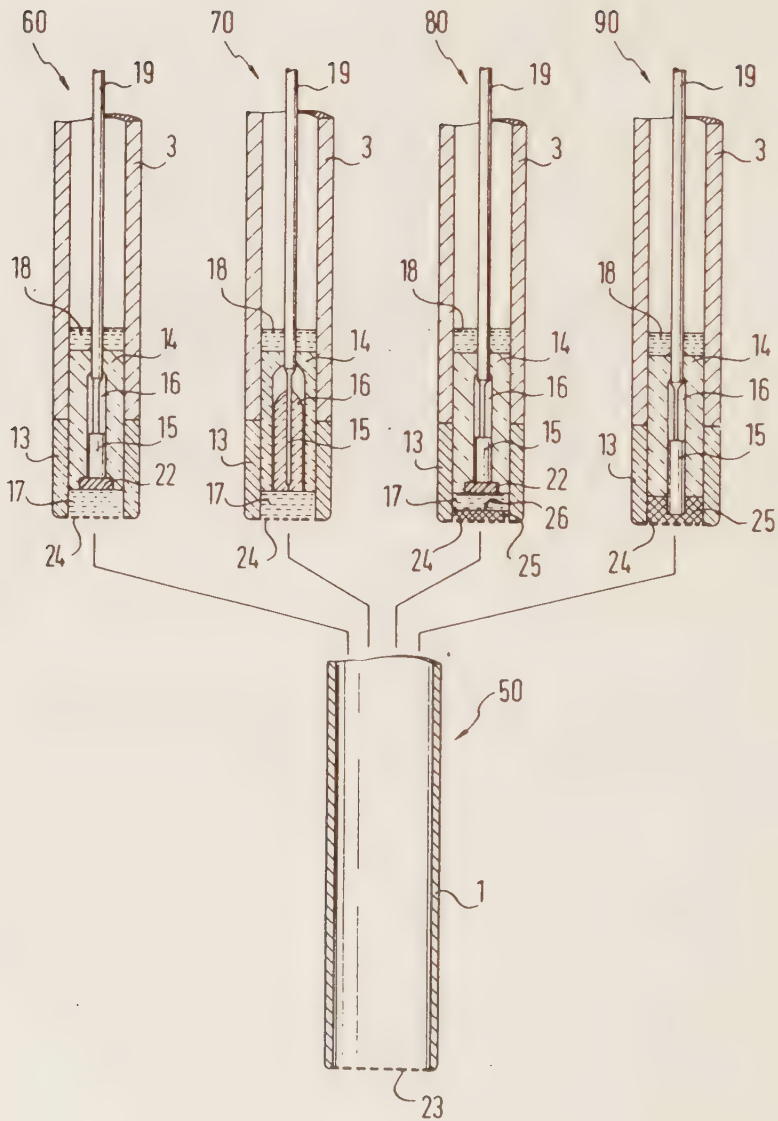


Fig.2



München, den 31. Okt. 1977
101/011

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG.,
Bad Homburg

Ansprüche

1. Elektrode für die elektrochemische Analyse, bestehend aus einer Schutzhülle, die an ihrem Ende mit einer für die zu bestimmenden Substanzanteile durchlässigen, für Makromoleküle und Bakterien jedoch undurchlässigen Membran verschlossen ist, und einem in die Schutzhülle einschiebbaren Meßfühler, dadurch gekennzeichnet, daß die Schutzhülle als Perikatheter (10) ausgebildet ist und daß der Meßfühler (20, 30, 40) eine vollständige, in sich abgeschlossene Elektrode darstellt.
2. Elektrode nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Membran (2,23) des Perikatheters (10, 50) ringsum mit dem Rand desselben verschweißt oder verklebt ist.

3. Elektrode nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß Perikatheter und Meßfühler als biegsame Schläuche ausgebildet sind.
4. Elektrode nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der Meßfühler mit einer Membran (5, 24) abgeschlossen ist, die in der eingeschobenen Lage unmittelbar an der Membran (2, 23) des Perikatheters anliegt.

München, den 31. Okt. 1977
101/011

Deutsches Patentamt
Zweibrückenstr. 12

8000 München 2

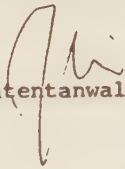
P 27 26 450.2-52

Dr. E. Fresenius ...

Die Anmelderin ersetzt die am 11. Juni 1977 beim Deutschen Patentamt eingegangenen Unterlagen durch die beigelegte berichtigte Neufassung und bittet diese der Offenlegung, sowie dem Prüfungsverfahren zugrunde zu legen.

Wie ein Vergleich mit dem ebenfalls beigelegten, handschriftlich durchkorrigierten Exemplar der ursprünglichen Unterlagen zeigt, handelt es sich durchwegs um die Berichtigung bzw. Klarstellung offensichtlich unrichtiger oder unvollständiger Angaben. In Fig. 2 wurde nur der rot angelegte Bezugsstrich berichtigt.

Anlage
neue Unterlagen
2-fach


Patentanwalt

Patentanwalt Dr. H. Hermelink, D-8 München 60, Apolloweg 9

Ihr Zeichen

Ihre Nachricht vom

Mein Zeichen

München,

101/025-Dr.Hk/Du. · 28. Oktober 1977

Betr. Deutsche Patentanmeldung P 27 37 922.2
"Künstliche endokrine Drüse"

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg

Ich bestätige hiermit, daß als Erfinder zu der obengenannten
Patentanmeldung dem Deutschen Patentamt gegenüber benannt
wurden:

1. Dr. Dr. J.G. Schindler, Arzt und Zahnarzt,
Körnerstr. 12, 3550 Marburg/Lahn
2. Dr. Ing. W. Schäl, Techn. Leiter,
Tannenwaldweg 27, 6380 Bad Homburg


Patentanwalt

Meine Akte Nr. 101/025

Empfangsbescheinigung für Patent-(Hilfs)Gebrauchsmuster-Warenzeichen-AnmeldungName des Anmelders: Dr.E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG
Apparatebau KG

6380 Bad Homburg v.d.H.

Bezeichnung der Anmeldung:

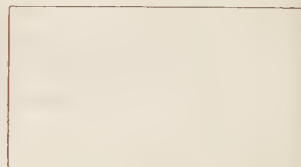
Künstliche endokrine Drüse

Datum des Antrages: 22.8.1977

Die obengenannte Anmeldung ist am heutigen Tage (siehe Stempel) hier eingegangen und unter dem Aktenzeichen:

P 27 37 922.2

in den Geschäftsgang gegeben worden.

Deutsches Patentamt
München

DPAK. F 008/50 Nachdruck verboten

23.8.1977

Patentanwalt

Dr. Heinrich Hermelink

D-8000 München 60, den
Appellweg 9

22.8.

19 77

Meine Akte Nr. 101/025

Empfangsbescheinigung für Patent-(Hilfs)Gebrauchsmuster-Warenzeichen-AnmeldungName des Anmelders: Dr.E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG
Apparatebau KG

6380 Bad Homburg v.d.H.

Bezeichnung der Anmeldung:

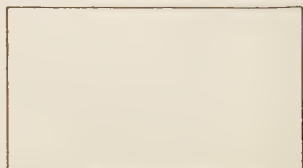
Künstliche endokrine Drüse

Datum des Antrages: 22.8.1977

Die obengenannte Anmeldung ist am heutigen Tage (siehe Stempel) hier eingegangen und unter dem Aktenzeichen:

G 77 26 085.6

in den Geschäftsgang gegeben worden.

Deutsches Patentamt
München

München, den 22. AUG. 1977
101/025

Dr. E. Fresenius Chem.pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
6380 Bad Homburg v.d.H.

Künstliche endokrine Drüse

Zusammenfassung

Eine künstliche endokrine Drüse enthält einen Dialysator zur Überführung des zu überwachenden Anteils von Blutproben in eine Meßflüssigkeit. Das in die Meßflüssigkeit eindiffundierte Substrat wird in einem Analysator quantitativ bestimmt. Hieraus berechnet ein Regler die zur Aufrechterhaltung des normalen Substrats erforderlichen Hormongaben, die dementsprechend dem Körper zugeführt werden. Das Blut und die Meßflüssigkeit sind in geschlossenen Kreisläufen geführt und die in die Meßflüssigkeit gelangenden Umsetzungsprodukte des Analysators, die durch den Dialysator wieder in das Blut eindringen können, sind mit dem Stoffwechsel des Patienten verträglich. Die Anordnung kann platzsparend gebaut werden und eignet sich zur Ausbildung als am Körper tragbares Gerät. Nach einer Ausgestaltung ist der Dialysator als intracorporaler Katheter ausgebildet. Die Anordnung ist insbesondere als künstliche Pankreas-Betazelle geeignet.

Stand der Technik

Die Erfindung bezieht sich auf eine künstliche endokrine Drüse, insbesondere eine künstliche Pankreas-Betazelle nach dem Gattungsbegriff des Hauptanspruchs. Künstliche Betazellen, etwas ungenau auch "künstliche Bauchspeicheldrüsen" genannt, sind z. B. in den am Schluß der Beschreibung unter 1) und 2) genannten Druckschriften beschrieben.

Die natürliche Funktion der Betazellen des endokrinen Pankreas besteht in der Hauptsache darin, in Abhängigkeit vom Glucosegehalt des Blutes das Hormon Insulin zu produzieren und freizusetzen, um dadurch die Aufnahme der im Blut gelösten Nahrungsstoffe in die Körperzellen und insbesondere den Aufbau von Glykogen aus der im Blut überschüssig vorhandenen Glucose zu steuern. Wenn dieser Regelmechanismus gestört ist, entsteht bekanntlich das Krankheitsbild des Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit).

Ein System, das die natürliche Funktion der Betazellen ersetzen soll, muß drei wesentliche Bestandteile haben, nämlich a) eine Einrichtung zur Messung der Glucosekonzentration im Blut, b) eine Einrichtung für die Zufuhr von Insulin in den Blutkreislauf und c) einen Regler, der auf Grund der Meßwerte die pro Zeiteinheit zuzuführende Menge Insulin steuert. Das System kann noch erweitert werden, indem zusätzlich die Zufuhr eines dem Insulin entgegenwirkenden Mittels (z. B. Glucose) vorgesehen wird.

In den obengenannten, in der Literatur beschriebenen künstlichen Betazellen wird das fortlaufend dem Patienten entnommene und gegen Gerinnung vorbehandelte Blut durch einen Dialysator geleitet, worin die Glucosemoleküle durch eine

Membran in eine Indikatorlösung eindiffundieren. Die dadurch bedingte Farbänderung des Indikators wird colorimetrisch bestimmt. Dieses Meßprinzip bedingt einen hohen technischen Aufwand mit entsprechend großem Volumen und Gewicht der Meßvorrichtung sowie erheblichem Flüssigkeitsverbrauch, so daß ein an sich wünschenswerter Aufbau in Form eines am Körper des Patienten tragbaren Gerätes bisher als außerhalb der technischen Möglichkeit angesehen werden mußte. Ein vor allem für die Daueranwendung wichtiges Problem blieb bisher vollständig ungelöst, nämlich die fortlaufende Analyse des Glucosegehaltes im Blut ohne ständigen Blutverlust.

In der Druckschrift 3) wird vorgeschlagen, statt des Colorimeters eine Glucoseelektrode zur Bestimmung des Glucosegehalts im Blut zu verwenden. Eine Glucoseelektrode besteht aus einer sauerstoffempfindlichen Elektrode, der das Enzym Glucoseoxidase vorgeschaltet ist. In Anwesenheit von Glucose und Sauerstoff bewirkt die GlucoseOxidase eine katalytische Oxidation der Glucose zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid. Je nach der Menge der vorhandenen Glucose wird also die im Bereich der Elektrode auftretende Sauerstoffkonzentration und damit die Stärke des die Elektrode durchfließenden Stromes herabgesetzt. Solche Elektroden benötigen wenig Platz und sind bei geeigneter Ausführung zuverlässig und langlebig. Es ist sogar vorgeschlagen worden, derartige Elektroden in die Haut des Patienten zu implantieren; dies hat sich aber auf die Dauer nicht bewährt. Mit der Glucoseelektrode kann man grundsätzlich im Vollblut messen; das Meßergebnis wird aber von verschiedenen Faktoren beeinflußt und ist nicht zuverlässig. Ferner bleibt auch bei Verwendung einer Glucoseelektrode als Meßfühler das Problem des ständigen Blutverlustes und der

Beseitigung der Abfallstoffe bestehen.

Vorteile der Erfindung

Die im Hauptanspruch gekennzeichnete Erfindung hat die Aufgabe, das Volumen und das Gewicht der künstlichen Betazelle zu reduzieren und gleichzeitig den ständigen Blutverlust des Patienten zu vermeiden. Zu diesem Zweck sind Blut und Meßflüssigkeit in geschlossenen Kreisläufen geführt, so daß die Bereitstellung von Vorratsbehältern für die Abfallprodukte überflüssig wird. Voraussetzung hierfür ist, daß die Umsetzungsprodukte des Analysators in der Meßflüssigkeit mit dem Stoffwechsel des Patienten verträglich sind, denn durch die Dialysemembran diffundieren diese Umsetzungsprodukte in das Blut zurück und werden dem Körper des Patienten zugeführt. Bei Verwendung einer Glucoseelektrode zur Messung des Glucosegehalts ist diese Bedingung erfüllt, denn die durch Umsetzung mit Sauerstoff gebildete Gluconsäure kann am Stoffwechsel des Patienten teilnehmen.

Da der Blutkreislauf und der Meßflüssigkeitskreislauf durch die Dialysemembran getrennt sind, besteht eine sichere Infektionsschranke zwischen dem Blutkreislauf und den übrigen Teilen des Systems.

Die Miniaturisierung läßt sich gemäß einer Ausgestaltung der Erfindung noch weiter treiben, indem der Dialysator als Katheter ausgebildet und in den Körper selbst verlegt wird. So läßt sich die ganze Anlage in Form eines am oder im Körper tragbaren Gerätes aufbauen.

Das Anwendungsgebiet der Erfindung ist nicht auf den Ersatz der Betazellenfunktion des Pankreas beschränkt, sondern sie

läßt sich auch zum Ersatz der Funktion anderer inner-sekretorischer Drüsen heranziehen, beispielsweise zur Regelung des Calciumstoffwechsels bei mangelnder Funktion der Nebenschilddrüse.

Beschreibung einiger Ausführungsbeispiele

Die Erfindung wird im folgenden an Hand der Zeichnungen in zwei Ausführungsbeispielen beschrieben. Es zeigen

Fig. 1 den Flüssigkeitskreislauf eines ersten Ausführungsbeispiels mit einem extracorporalen Dialysator und den weiteren Funktionselementen in schematischer Darstellung,

Fig. 2 den Flüssigkeitskreislauf eines zweiten Ausführungsbeispiels in schematischer Darstellung einschließlich einer schematischen Teilschnittdarstellung des verwendeten Dialysekatheters,

Fig. 3 eine schematische Seitenansicht des in beiden Flüssigkeitskreisläufen verwendeten Pumpen-Oxygenators und

Fig. 4 eine Draufsicht desselben.

Bei dem in Fig. 1 gezeigten Ausführungsbeispiel wird das Blut durch eine doppelläufige Kanüle 101 bekannter Art, die in ein Blutgefäß 102 des Patienten eingeführt ist, entnommen. Solche Kanülen haben zwei koaxiale Flüssigkeitskanäle, von denen der innere, der mit der Schlauchleitung 103 verbunden ist, zur Abführung des Blutes dient, während durch den äußeren, der mit der Leitung 104 verbunden ist,

eine die Gerinnung hemmende Substanz, z. B. Heparin, enthaltende Lösung durch die Pumpe 105 aus dem Vorratsbehälter 106 zugeführt wird. Die Wirkung gerinnungshemmender Medikamente kann bekannterweise durch geeignete Antagonisten - im Falle des Heparins ist es Protamin - vor der Reinfundierung des Blutes neutralisiert werden. Innerer und äußerer Kanal können in ihren Funktionen auch vertauscht werden. Die Flußrate der Heparinlösung ist wesentlich geringer als die pro Zeiteinheit entnommene Blutmenge. Zweck dieser Anordnung ist es, die Gerinnungsfähigkeit des Blutes bereits unmittelbar an der Entnahmestelle so weit herabzusetzen, daß eine Gerinnung in dem angeschlossenen System verhindert wird. Das durch die Leitung 103 fließende Blut gelangt zu dem Dialysator 107, der eine semipermeable Membran zur Trennung von Blut- und Meßkreislauf enthält. Nachdem das Blut den Dialysator passiert hat, fließt es durch die Leitung 108, die Pumpe 109 und die sich daran anschließende Leitung 110 zum Patienten zurück. Die eigentliche Rückführung erfolgt durch die Kanüle 111, die in ein Blutgefäß 112 eingeführt ist. Die Pumpe 109, die eine bestimmte Menge Blut pro Zeiteinheit durch den Dialysator fördert, kann statt in die abführende ebenso in die zuführende Leitung 103 des Dialysators eingefügt werden.

Während längs der einen Oberfläche der semipermeablen Membran des Dialysators das Blut fließt, wird an der anderen Oberfläche eine Flüssigkeit entlanggeführt, die in dem angeschlossenen Analysekreislauf zirkuliert. Die durch die Leitung 113 dem Dialysator zufließende Flüssigkeit nimmt auf ihrem Weg entlang der Membranoberfläche annähernd die gleiche Glucosekonzentration wie das an der entgegengesetzten Membranoberfläche fließende Blut an, da

die Membran für Glucose auf Grund deren relativ geringer Molekülgröße eine hohe Durchlässigkeit aufweist, so daß ein rascher Konzentrationsausgleich stattfinden kann. Die über die Leitung 114 abfließende, auf den Glucosegehalt des Blutes aufgesättigte Flüssigkeit gelangt durch das in Normalbetrieb geöffnete Schlauchklemmventil 115 zu der Pumpe 116. Die Schlauchklemmventile 117 und 118 sind dabei geschlossen. Die Pumpe 116 wird gleichzeitig als Oxigenator genutzt, d. h. die geförderte Flüssigkeit wird gleichzeitig auf den Sauerstoffgehalt der umgebenden Atmosphäre aufgesättigt. Einzelheiten der Funktion der Oxigenator-Pumpe 116 werden weiter unten erläutert. Die auf den Sauerstoffpartialdruck der Luft gesättigte Flüssigkeit passiert hinter der Pumpe 116 einen Enzymreaktor 119 mit dem Enzym Glucoseoxidase, das Glucose unter Sauerstoffverbrauch in Gluconsäure umsetzt. Der Enzymreaktor enthält das Enzym vorzugsweise in immobilisierter Form, z. B. an die Oberfläche eines polymeren Trägermaterials gebunden. Eine von mehreren bekannten Ausführungsformen solcher Reaktoren besteht z. B. aus einem einfachen Schlauch, der das Enzym an seiner inneren Oberfläche trägt. Der Sauerstoffpartialdruck am Ausgang des Reaktors, ein Maß für die Glucosekonzentration, wird mit dem Sauerstoff-Meßfühler 120 gemessen. Nach Passieren des Meßfühlers 120 wird die Flüssigkeit durch die Leitung 113 zum Dialysator zurückgeleitet und durchläuft den beschriebenen Kreislauf von neuem. Die zirkulierende Flüssigkeit nimmt auf Grund der Eigenschaften des Dialysators 107 hinsichtlich ihrer niedermolekularen Bestandteile etwa die Zusammensetzung des Blutes an, so daß die Endprodukte des durch Glucoseoxidase katalysierten Glucoseumsatzes vom Stoffwechsel des Patienten weiter verarbeitet werden können. Es besteht daher andererseits auch die Möglichkeit, weitere Meßfühler, z. B.

in Form ionenselektiver und/oder gassensitiver Elektroden, evtl. unter Einbeziehung weiterer enzymatischer Reaktionen, in den Analysekreislauf einzufügen, wenn weitere Analysenwerte zu anderen Zwecken gewonnen werden sollen.

Da die semipermeable Membran als keimdichte Schranke zwischen Blutkreislauf und Meßkreislauf dient, ist es wünschenswert, ein Leck in dieser Membran rechtzeitig zu erkennen. Diesem Zweck dient der Membranleckdetektor 121 in Form einer aus Lichtquelle und Lichtsensor bestehenden Lichtschranke, durch die die als transparenter Schlauch ausgebildete Leitung 114 hindurchgeht. Bei einem Membranleck tritt Blut in die zirkulierende Flüssigkeit über, so daß die vom Lichtsensor aufgenommene Lichtintensität sich vermindert und dementsprechend durch in der Steuerung des Systems vorgesehene Sicherheitsfunktionen der gesamte Kreislauf stillgesetzt wird. Eine gleichartige Sicherheitseinrichtung in Form einer Lichtschranke 122 dient zur Kontrolle des zum Patienten zurückgeleiteten Blutes auf das Vorhandensein von Luft. Luft kann bei Undichtigkeiten des Systems von der Pumpe 109 angesaugt und in die zum Patienten führende Leitung gefördert werden. Um eine dadurch mögliche Gefährdung des Patienten auszuschließen, ist in der Steuerung des Systems vorgesehen, daß bei Auftreten einer erhöhten Lichtintensität am Lichtsensor der Lichtschranke 122 automatisch die Pumpe 109 oder der gesamte Kreislauf stillgelegt wird.

Zur Überwachung und Aufrechterhaltung der Meßgenauigkeit ist vorgesehen, die aus den Elementen 116, 119 und 120 bestehende Meßvorrichtung in regelmäßigen Zeitabständen zu kontrollieren und zu eichen. Hierzu wird das Schlauchklemmventil 115 geschlossen, die Schlauchklemmventile 117 und 118 werden geöffnet. Der Analysenstrecke wird dadurch

aus dem Vorratsgefäß 123 eine Eichflüssigkeit mit definierter Glucosekonzentration zugeführt. Eine gleichgroße Flüssigkeitsmenge fließt durch das Schlauchklemmventil 117 in den Sammelbehälter 124. Es ist zweckmäßig, der Eichflüssigkeit, die sich in dem Vorratsgefäß 123 befindet, bakteriostatisch oder bakterizid wirkende Substanzen bzw. auch fungicide Mittel zuzufügen, um ein Keimwachstum im Analysenkreislauf zu unterdrücken.

Der Sauerstoff-Meßfühler ist mit einem elektronischen Regler 125 verbunden, dessen Zweck im wesentlichen darin besteht, in Abhängigkeit von der gemessenen Glucosekonzentration eine Infusionspumpe für Insulin zu steuern. Diese Infusionspumpe 126, die z. B. als Schlauchpumpe ausgebildet sein kann, fördert eine das Insulin enthaltende Lösung aus dem Vorratsgefäß 127 in die zum Patienten führende Leitung 110, so daß das Insulin zusammen mit dem zurückgeführten Blut in den Blutkreislauf des Patienten gelangt.

Der elektronische Regler soll sowohl den aktuellen Istwert der Glucosekonzentration K_G , als auch deren zeitlichen Differentialquotienten dK_G/dt , d. h. die Änderungsgeschwindigkeit der Glucosekonzentration, berücksichtigen, wobei die Änderungsgeschwindigkeit mit einer nichtlinearen Funktion f bewertet wird, so daß als Rechengröße ein "wahrscheinlicher Endwert" der Glucosekonzentration in der Form $K_{GE} = K_G + f(dK_G/dt)$ auftritt. Eine zweite nichtlineare Bewertungsfunktion bestimmt die pro Zeiteinheit zuzuführende Menge Insulin (m_I) in Abhängigkeit von dem "wahrscheinlichen Endwert" der Glucosekonzentration, d. h. $m_I = g(K_{GE})$. Geeignete Bewertungsfunktionen sind aus der Literatur bekannt. Um die bei den periodisch durchgeführten Eichkontrollen ermittelten Kontrollwerte hinsichtlich etwaiger Empfindlichkeitsänderungen der Meßeinrichtung automatisch zu berücksichti-

gen, muß der Regler außerdem in der Lage sein, den Meßwert K_G mit einem entsprechenden, bei der Eichung ermittelten Korrekturfaktor zu versehen. Die beschriebenen Rechenoperationen, die der Regler 125 ausführen muß, können in verschiedener Weise verwirklicht werden. Es ist allerdings wegen der Komplexität der Gesamtaufgabe naheliegend, hierfür ein digitales System mit einem Mikroprozessor einzusetzen.

In einer bevorzugten Ausführung des Reglers ist eine diskontinuierliche Arbeitsweise in der Form vorgesehen, daß die Berechnung der optimalen Insulinmenge und dementsprechend die Dosierung und Zuführung dieser Menge mit Hilfe der Insulinpumpe nur in größeren Zeitabständen, z. B. am Ende eines Zeitintervalls von jeweils 10 bis 20 Minuten, erfolgt, wobei die Istwerte der Glucosekonzentration und deren Änderungsgeschwindigkeit als Mittelwerte über einen Teil des Zeitintervalls ermittelt werden. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, in jedes dieser Zeitintervalle einen Eichvorgang einzuschalten, oder zumindest nach Ablauf von jeweils einer bestimmten Anzahl (z. B. 5 oder 10) von Zeitintervallen einen Eichvorgang in das nachfolgende Zeitintervall einzufügen.

Aus Fig. 1 ist ersichtlich, daß für die Pumpen 109, 105 und 116, die im wesentlichen mit konstanter Geschwindigkeit betrieben werden, ein gemeinsamer Antrieb in Form eines Elektromotors 128 benutzt werden kann, wobei evtl. unterschiedliche Getriebeuntersetzungen in der Figur nicht berücksichtigt sind. Neben dieser durch den gemeinsamen Antrieb bedingten Vereinfachung ergibt sich eine weitere Vereinfachung dadurch, daß der Motor 128 auch zur Steuerung

der einzelnen Meß- und Eichvorgänge und der damit verbundenen Funktionen des Reglers 125 herangezogen wird, wobei auch die Betätigung der Schlauchklemmventile 115, 117 und 118 für den Eichvorgang durch den Antriebsmotor 128 veranlaßt wird. Es geschieht dies vorzugsweise dadurch, daß der Motor über ein Getriebe mit geeigneter Untersetzung nicht dargestellte Nockenscheiben bewegt, die entsprechende Kontaktgeber für die Auslösung der elektrischen Funktionen des Reglers 125 und Antriebshebel für das Schließen und Öffnen der Schlauchklemmventile 115, 117 und 118 betätigen.

In Fig. 2 ist ein zweites Beispiel für den Flüssigkeitskreislauf einer "künstlichen Bauchspeicheldrüse" angegeben. Dieses Beispiel bezieht sich vorzugsweise auf eine am Körper des Patienten tragbare Vorrichtung. Der Unterschied gegenüber dem ersten Beispiel besteht im wesentlichen darin, daß anstelle des extracorporalen Dialysators ein intracorporaler Dialysator in Form eines Dialyse- oder Filterkatheters vorgesehen ist. Der in ein Blutgefäß des Patienten eingeführte Dialysekatheter 201 mit der auf gewindeartig oder parallel zur Längsachse verlaufenden Rippen 202 eines Grundkörpers 203 abgestützten Dialysemembran 204 und den Zufluß- und Abflußkanälen 205 und 206 bildet einen Teil des Analysekreislaufes für die Messung der Glucosekonzentration. Die Flüssigkeit, die über die Leitung 207 in den Kanal 205 eintritt und bei 208 zur Rückseite der Membran geleitet wird, nimmt auf ihrem weiteren Weg entlang der inneren Membranfläche annähernd die gleiche Glucosekonzentration wie das an der äußeren Membranfläche fließende Blut an. Die über die Leitung 209 abfließende, auf den Glucosegehalt des Blutes aufgesättigte Flüssigkeit gelangt

durch das im Normalbetrieb geöffnete Schlauchklemmventil 210 zu dem Pumpen-Oxygenator 211. Nach Passieren des Enzymreaktors 212 und des Sauerstoff-Meßfühlers 213 wird die Flüssigkeit durch die Leitung 207 in den Kanal 205 des Katheters zurückgeleitet und durchläuft den beschriebenen Kreislauf von neuem. Die Funktionen der genannten Elemente sind die gleichen wie bei dem ersten Ausführungsbeispiel, ebenso die der Eichung dienenden Schlauchklemmventile 214 und 215 sowie der Behälter 216 und 217. Auch hier ist es zweckmäßig, der im Behälter 216 enthaltenen Eichflüssigkeit Substanzen beizumischen, die ein Keimwachstum verhindern, so daß diese Substanzen bei den periodischen Eichvorgängen in den Analysenkreislauf gelangen. Ebenso kann der Zusatz gerinnungshemmender Substanzen, z. B. Heparin, vorteilhaft sein, um eine Tendenz zur Blutgerinnung an der äußeren Membranoberfläche zu unterdrücken.

Die von dem elektronischen Regler 218 gesteuerte Insulin-Infusionspumpe kann als Schlauchpumpe ausgebildet sein, oder, wie in diesem Beispiel gezeigt, als Spritzenpumpe, bestehend aus einem Motor 219, einem Getriebemechanismus 220 und einer Injektionsspritze 221, die das Insulin enthält. Der Getriebemechanismus 220 setzt die Drehbewegung des Motors 219 in eine Linearbewegung zum Antrieb des Kolbens der Injektionsspritze 221 um; letztere ist mit einem Kanal 223 des Katheters 201 verbunden, der frei auf der Oberfläche des Katheters mündet.

Zur automatischen Erkennung eines evtl. Defektes der Membran des Katheters ist wie bei dem ersten Ausführungsbeispiel ein Membranleckdetektor in Form einer Lichtschranke 222 vorgesehen, durch die der als transparente Schlauch

ausgebildete Leitung 209 hindurchgeht. Die durch das Auftreten von Blut in dieser Leitung bedingte Verminderung der Lichtintensität am Lichtsensor löst ein Signal aus, das den Antrieb der Pumpe 211 stillsetzt und darüber hinaus eine akustische Störungsmeldung veranlaßt.

Ein Ausführungsbeispiel des erwähnten Pumpen-Oxygenators 116 bzw. 211 ist in Fig. 3 und 4 dargestellt. Diese Einrichtung, die die Funktionen einer Pumpe und eines Oxygenators in sich vereinigt, gleicht in ihrem Aufbau einer normalen Schlauchpumpe, vorzugsweise in Form einer sogenannten statorlosen Schlauchpumpe, bei der der Pumpenschlauch mit einer gewissen Vorspannung über den Rotor geschlungen ist, so daß der Schlauchquerschnitt an den Auflagestellen auf den Rollen des Rotors infolge dieser Vorspannung vollständig verschlossen wird. Für die gleichzeitige Funktion als Pumpe und als Oxygenator wird die Tatsache ausgenutzt, daß bestimmte Kunststoffe, z. B. Silikonkautschuk, die sich wegen ihrer Elastizität als Material für Schläuche von Schlauchpumpen eignen, eine sehr hohe Gasdurchlässigkeit aufweisen. Es hat sich gezeigt, daß bei geeigneter Dimensionierung neben der Pumpwirkung eine sehr wirksame Funktion als Oxygenator erreicht werden kann. Hierzu ist eine möglichst geringe Wandstärke und große Oberfläche des Schlauches sowie eine relativ hohe Verweilzeit des Mediums in der Pumpe vorteilhaft. Eine Optimierung hinsichtlich der verschiedenen Anforderungen ist dadurch zu erreichen, daß der Förderstrom in mehrere parallele Teilströme verzweigt und auf mehrere parallele Pumpenschläuche verteilt wird.

Bei dem in Fig. 3 und 4 gezeigten Ausführungsbeispiel trägt der Rotor 301, der von der Achse 302 eines Getriebe-

motors 303 in Drehung versetzt wird, vier Rollen 304, die im Rotor frei drehbar gelagert sind. Über diese Rollen sind Pumpenschläuche 305 gespannt, deren Enden in einer Halterung 306 befestigt sind. Zur Verteilung des in der Leitung 307 fließenden Mediums auf die Pumpenschläuche dienen Verteilerstücke 308.

Bei den im Zusammenhang mit Fig. 1 und Fig. 2 beschriebenen Ausführungsbeispielen wurde im Interesse einer möglichst weitgehenden gerätetechnischen Vereinfachung auf die an sich bekannte Möglichkeit einer Gegenregulation durch Infusion von Glucose (oder evtl. Glucagon) im Falle einer Unterschreitung einer bestimmten Glucosekonzentration im Blut verzichtet, da ein Glucosedefizit auch durch orale Verabreichung von Glucose ausgeglichen werden kann. Eine zweckmäßige Ergänzung der beschriebenen Systeme kann jedoch in einem mit dem Sauerstoff-Meßfühler 120 bzw. 213 verbundenen Anzeigegerät bestehen, an dem die aktuelle Glucosekonzentration abgelesen werden kann und/oder in einer Vorrichtung zur Grenzwertüberwachung, die bei Erreichen bestimmter kritischer Werte der Glucosekonzentration ein Warnsignal auslöst.

Die Erfindung ist nicht auf die im einzelnen beschriebene Anwendung als Ersatz der Betafunktion des Pankreas beschränkt, sondern kann auch zur Substitutionstherapie bei Ausfall anderer endokriner Drüsen dienen. Als Beispiel sei die Regelung des Calcium-Stoffwechsels bei Ausfall der Nebenschilddrüsen erwähnt. Die Nebenschilddrüsen sind der Bildungsort des Parathormons, das die Calcium-Ionenaktivität im Blut und in der extrazellulären Flüssigkeit erhöht. Der Antagonist des Parathormons ist das Thyreocalcitonin, das in den parafollikulären Zellen der Schilddrüse gebildet wird.

Bei Ausfall der Nebenschilddrüsen können die Anordnungen nach Fig. 1 oder Fig. 2 weitgehend unverändert übernommen werden. Das Glied 120 bzw. 213 ist in diesem Fall als calcium-selektiver Sensor ausgebildet; der Enzymreaktor 119 bzw. 212 entfällt. Das Vorratsgefäß 123 bzw. 216 enthält eine Eichlösung mit definierter Calciumionenkonzentration. Das Gefäß 127 bzw. 221 enthält Parathormon. Evtl. ist eine zusätzliche automatische Injektionsvorrichtung für Thyreocalcitonin und/oder Calcium sinnvoll.

Die dargestellte und beschriebene Anordnung ergibt eine wesentliche Erhöhung der Funktionssicherheit in medizinischer und technischer Hinsicht, da jedes Infektionsrisiko vermieden ist und die Analysenvorrichtung nicht durch Blutbestandteile in ihrer Funktion beeinträchtigt werden kann. Durch die automatische periodische Prüfung und Eichung des Meßsystems wird eine hohe Funktionssicherheit erreicht. Hierzu tragen zusätzlich der Detektor für Membranlecks und gegebenenfalls der Luftdetektor bei. Der technische Aufwand kann gering gehalten werden, wenn in der beschriebenen Weise die Funktionen von Oxigenator und Pumpe vereinigt sind und der Antriebsmotor der Pumpe gleichzeitig für die Betätigung der Schlauchklemmventile bei der Eichung und als Taktgeber für den Ablauf der Meß- und Eichvorgänge herangezogen wird.

Bericht über den Stand der Technik

1. A. M. Albisser u.a.: Clinical Control of Diabetes
by the Artificial Pancreas.
Diabetes 23 (1974) S. 397 bis 404
2. W. Kerner u.a.: Attempts at Perfect Normalization of
Glucose Tolerance Test of Severe
Diabetics by Artificial Beta Cell.
Horm. Metab. Res. 8 (1976) S. 256 bis 261
3. E. C. Layne u.a.: Continuous Extracorporeal Monitoring
of Animal Blood Using the Glucose Electrode
Diabetes 25 (1976) S. 81 bis 89

Fig.1

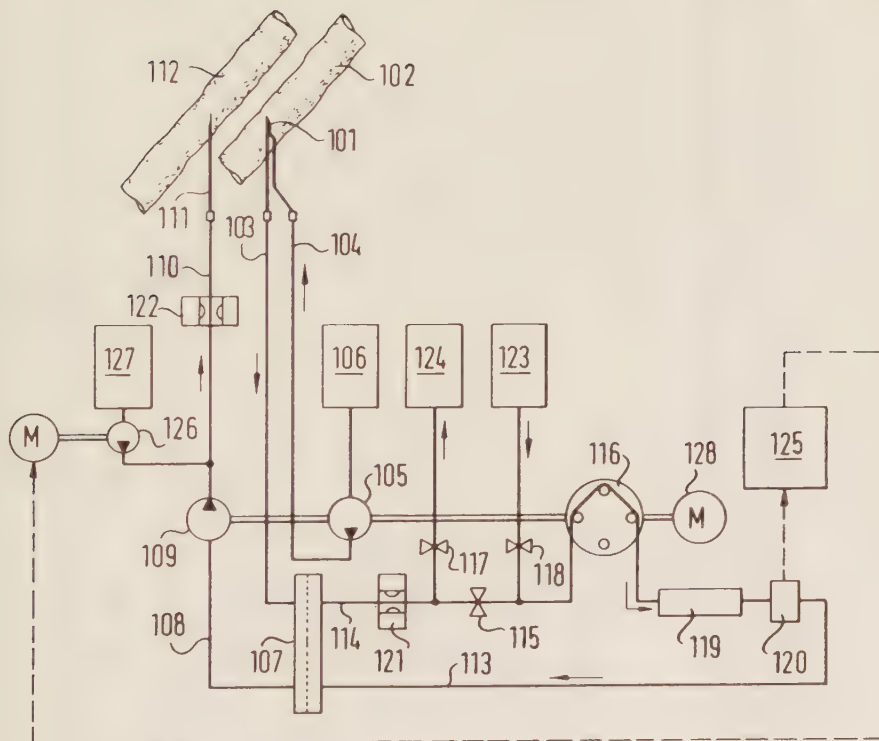


Fig. 2

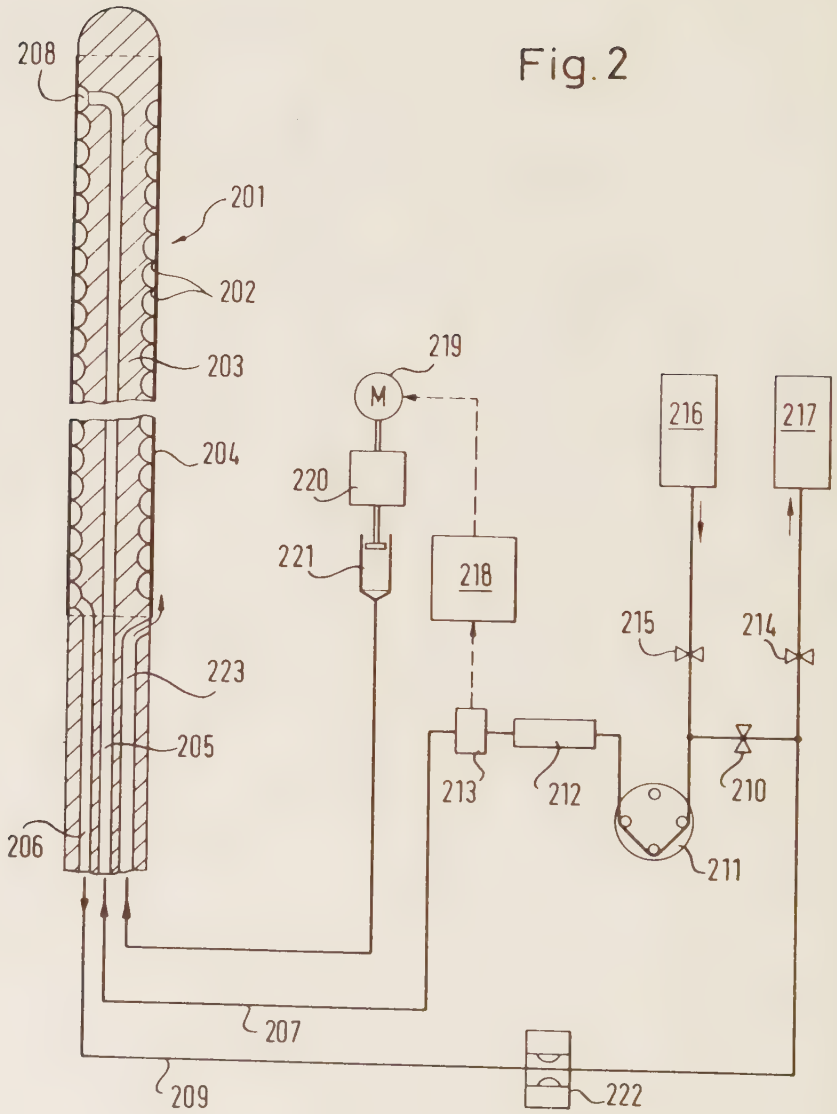


Fig.3

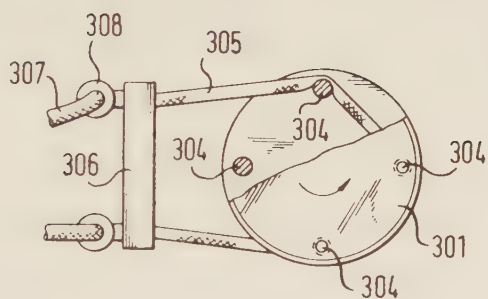
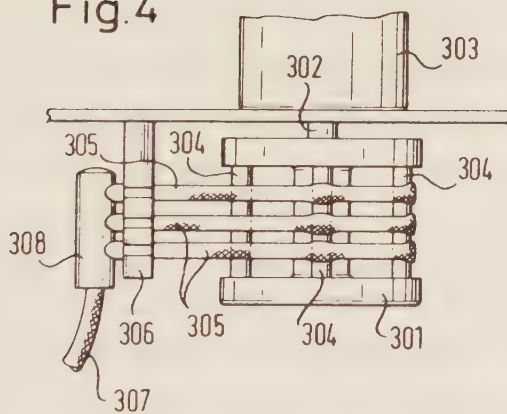


Fig.4



München, den 22. Aug. 1977
101/025

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
6380 Bad Homburg v.d.H.

A n s p r ü c h e

1. Künstliche endokrine Drüse, bestehend aus einer Vorrichtung zur laufenden Blutentnahme, einem Dialysator zur Überführung des zu überwachenden Anteils des entnommenen Blutes in eine Meßflüssigkeit, einem Analysator zur quantitativen Bestimmung dieses Anteils, einem Regler und einer Vorrichtung zur Zuführung der vom Regler errechneten Hormonmengen in den Körper, dadurch gekennzeichnet, daß das den Dialysator durchströmende Blut und die Meßflüssigkeit in geschlossenen Kreisläufen geführt sind und daß die in die Meßflüssigkeit gelangenden Umsetzprodukte des Analysators mit dem Stoffwechsel des Patienten verträglich sind.

Dr.Hk/Me

2. Künstliche Drüse nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Dialysator aus einem intracorporalen Katheter (201) besteht.
3. Künstliche Drüse nach Anspruch 2, gekennzeichnet durch eine auf der Außenfläche des Katheters (201) aufliegende, durch Rippen (202) eines Grundkörpers (203) abgestützte Dialysmembran (204), mit dem Meßflüssigkeitsverlauf in Verbindung stehende Zu- und Abflußkanäle (205, 206) für den Raum auf der Rückseite der Membran und einen frei auf der Oberfläche des Katheters mündenden Kanal (223), der mit der Vorrichtung (221) zur Hormonzuführung in Verbindung steht.
4. Künstliche Drüse nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Umschaltvorrichtung (115, 117, 118; 210, 214, 215) zur periodischen Eichung des Analysators mit einer Eichflüssigkeit (123, 216).
5. Künstliche Drüse nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Meßflüssigkeitspumpe (116, 211) mit Schaltnocken zur Betätigung der Umschaltvorrichtung versehen ist.
6. Künstliche Drüse nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch optische Überwachungsrichtungen

(121, 122; 222) für Blut im Meßflüssigkeitskreislauf und/oder Luft im rückgeführten Blut.

7. Künstliche Pankreas-Betazelle nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß im Meßflüssigkeitskreislauf ein Oxigenator (116, 211), ein Enzymreaktor (119, 212) und ein sauerstoffempfindlicher Meßfühler (120, 213) hintereinander angeordnet sind.
8. Künstliche Pankreas-Betazelle nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Oxigenator als Rollenpumpe mit für den Luftsauerstoff durchlässigen Schläuchen (305) ausgebildet ist.

Patentanwalt Dr. H. Hermelink, D 8 München 60, Apolloweg 9

Ihr Zeichen

Ihre Nachricht vom

Mein Zeichen

München,

101/015-Dr.Hk/Du. 28. Oktober 1977

Betr. Deutsche Patentanmeldung P 27 34 248.9
"Tragbare künstliche Niere"

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG,
Bad Homburg

Ich bestätige hiermit, daß als Erfinder zu der obengenannten
Patentanmeldung dem Deutschen Patentamt gegenüber benannt
wurden:

1. Dr. Ing. W. Schäl, Techn. Leiter,
Tannenwaldweg 27, 6380 Bad Homburg
2. Dr. Dr. J.G. Schindler, Arzt und Zahnarzt,
Körnerstr. 12, 3550 Marburg/Lahn

Patentanwalt



Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG
6380 Bad Homburg v.d.H.

Tragbare künstliche Niere

Zusammenfassung

Es wird eine tragbare künstliche Niere vorgeschlagen, die für den kontinuierlichen Gebrauch gedacht ist. Sie besteht aus einem Katheter mit Filtereigenschaften, der einen offen in die Oberfläche des Katheters mündenden Infusionskanal, ein Stützrippensystem für eine an der Oberfläche des Katheters angeordnete semipermeable Membran und unter der Membran endende Zu- und Ableitkanäle aufweist. Der Ableitkanal steht mit einer Saugpumpe in Verbindung, während der Zuleitkanal zur Zuführung einer Spüllösung und der Infusionskanal zum Ersatz der abfiltrierten Flüssigkeit dienen.

Stand der Technik

Die Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung zum Ersatz der natürlichen Nierenfunktion nach dem Oberbegriff des Anspruchs 1. Solche allgemein als künstliche Niere bezeichneten Vorrichtungen sind in verschiedenen Ausführungen bekannt. Sie enthalten im wesentlichen einen in den Blutkreislauf einbeziehbaren Stoffaustauscher mit semipermeabler Membran; ein äußeres Flüssigkeitssystem dient zum Sammeln der aus dem Blut abgegebenen Stoffe und zum Ersatz der abgeführten Flüssigkeitsmenge. Angesichts der großen Flüssigkeitsmengen, die aus dem Blut abgeschieden werden müssen, sind bisher durchwegs stationäre Geräte

von erheblicher Größe im Gebrauch, an die der Patient in bestimmten Zeitabständen, z.B. dreimal pro Woche, jeweils für mehrere Stunden angeschlossen werden muß. Vorschläge, den Stoffaustauscher und das Flüssigkeitssystem tragbar auszubilden, konnten bisher keine praktische Verwirklichung finden.

Das bisher vorwiegend angewandte Verfahren der künstlichen Niere basiert auf dem Prinzip der Dialyse. Das Blut des Patienten wird auf der einen Seite einer semipermeablen Membran entlanggeführt, eine Dialysierlösung geeigneter Zusammensetzung auf der anderen Seite. Der Stoffaustausch, insbesondere der Übergang harnpflichtiger Substanzen aus dem Blut durch die semipermeable Membran in die Dialysierlösung, ist hierbei vorwiegend ein Diffusionsprozeß. In Konkurrenz dazu hat sich in den letzten Jahren ein anderes Verfahren als geeignet erwiesen, bei dem vorwiegend ein konvektiver Stofftransport vorliegt. Dieses Verfahren, unter der Bezeichnung Diafiltration oder Hämofiltration bekannt, besteht darin, daß dem Blut des Patienten über eine Filtermembran unter Anwendung einer Druckdifferenz größere Mengen Plasmawasser mit darin gelösten harnpflichtigen Substanzen entzogen werden, und daß parallel dazu dieser Flüssigkeitsverlust durch die Infusion einer geeigneten Substitutionslösung soweit ersetzt wird, daß die Flüssigkeitsbilanz des Patienten normalisiert wird. Dieses Verfahren hat u.a. den Vorteil, daß seine Wirksamkeit bei Verwendung geeigneter Filter bezüglich der höhermolekularen harnpflichtigen Substanzen höher ist als bei der Dialyse, so daß die zur Anwendung kommenden Flüssigkeitsmengen erheblich geringer sein können. Während für eine Dialysebehandlung etwa 160 l Dialysierlösung benötigt werden, genügen für eine gleichwertige Hämofiltrationsbehandlung etwa 15 l Substitutionslösung. Es ist zu erwarten, daß durch eine unterstützende Therapie mit Ketoaminosäuren diese Menge künftig noch weiter vermindert werden kann, da durch die Gabe von Ketoaminosäuren der in den niedermolekularen harnpflichtigen Substanzen enthaltene Stickstoff teilweise in den Stoffwechsel des Patienten zurückgeführt wird. Dadurch können die

Konzentrationen der niedermolekularen Harngifte, die für die weitere Verminderung des Flüssigkeitsaustausches bisher ein limitierender Faktor sind, von vornherein gesenkt werden.

Bei der bisher angewandten Form der Hämofiltration erfolgt die Behandlung ähnlich wie bei der Hämodialyse diskontinuierlich, und zwar im allgemeinen dreimal wöchentlich bei einer Behandlungsdauer von jeweils etwa 5 Stunden. Pro Behandlung werden typisch etwa 17 Liter Filtrat abgezogen und etwa 15 Liter Substitutionslösung zugeführt. Eine Verlängerung der Dauer einer Behandlung über ca. 5 Stunden hinaus ist kaum sinnvoll, weil infolge des Verdünnungseffektes der Substitutionslösung die Wirksamkeit im Verlaufe der Behandlung erheblich sinkt und die Konzentration der harnpflichtigen Substanzen im Filtrat sich nach dieser Zeit auf etwa 1/3 vermindert. Der Mittelwert der Konzentration im Filtrat beträgt etwa 60% des Anfangswertes. Hierbei spielt auch die Tatsache eine Rolle, daß der Nachstrom harnpflichtiger Substanzen aus dem Intrazellulärraum aufgrund begrenzter Diffusionsgeschwindigkeit nur langsam vor sich geht.

Ein Vergleich zwischen der diskontinuierlichen Anwendung des Behandlungsverfahrens und einer kontinuierlichen Anwendung zeigt, daß bei der kontinuierlichen Behandlung der Verdünnungseffekt praktisch unbedeutend ist, so daß die gleiche Behandlungswirkung mit geringerem Flüssigkeitsaustausch erreicht wird. Während die wöchentliche Filtratmenge bei der üblichen Methodik etwa $3 \times 17 \text{ l}$ oder rund 50 l beträgt, wird bei kontinuierlicher Filtration eine Filtratmenge von ca. 30 l ausreichen, um die gleiche Menge harnpflichtiger Substanzen zu entfernen. Dies entspricht einem Filtratfluß von etwa 3 ml/min, der bereits mit einer relativ kleinen Filterfläche erreicht werden kann.

Bei der bisher üblichen Behandlungstechnik stellt die Herstellung der Verbindung zwischen dem Blutkreislauf des Patienten und dem außerhalb des Körpers befindlichen Filters ein wesentliches Problem dar. Es ist üblich, hierzu zwei Anstichkanülen

für die Hin- und Rückleitung des Blutes zu verwenden. Um einen ausreichend niedrigen Durchflußwiderstand zu erhalten, liegt der Durchmesser dieser Kanülen im Bereich von 1,8 bis 2,4 mm. Das ständig wiederholte Einstechen dieser großen Kanülen ist für den Patienten sehr schmerzhaft und mit bleibenden Schädigungen der durchstochenen Gewebe und Blutgefäße verbunden. Diese Tatsache in Verbindung mit den vorausgegangenen quantitativen Überlegungen hinsichtlich der Vorteile einer kontinuierlichen Filtration führte zu dem Ziel, den Prozeß der Filtration in den Blutkreislauf selbst zu verlegen und hierfür einen Filterkatheter zu entwickeln, der im Blutkreislauf des Patienten verweilt, wobei ein Wechsel dieses Filterkatheters voraussichtlich nur in relativ großen Zeitabständen notwendig wird.

Vorteile der Erfindung

Mit der im Hauptanspruch gekennzeichneten Erfindung wurde die Aufgabe gelöst, eine einfache und billige künstliche Niere zu schaffen, die der Patient ständig an bzw. in seinem Körper tragen kann, ohne in seiner Bewegungsfreiheit wesentlich eingeschränkt zu sein.

Das Flüssigkeitssystem ist vorzugsweise so gestaltet, daß es mit geringem Aufwand an Regel- und Absperrorganen auskommt und so ebenfalls klein und leicht ausgebildet werden kann.

Beschreibung der Erfindung

Ein Ausführungsbeispiel der Erfindung wird nachstehend anhand der einzigen Figur der Zeichnung beschrieben. Sie zeigt einen Längsschnitt des Filterkatheters und eine schematische Darstellung des an diesen Katheter anschließbaren äußeren flüssigkeitsführenden Systems.

Der fragmentarisch dargestellte Filterkatheter 1 ist so ausgebildet, daß er in ein Blutgefäß des Patienten (vorzugsweise in die Vena cava mit Zugang über die Vena saphena magna) eingeführt werden kann. Die Technik der Einführung von Gefäßkathetern und die hierzu geeigneten Hilfsmittel sind bekannt. Der Katheter besteht im wesentlichen aus einem biegsamen, jedoch festen Werkstoff, z.B. Polyamid oder Polyester, und weist mehrere längsverlaufende Kanäle auf, die weiter unten im einzelnen beschrieben werden. Der Katheter 1 hat einen Durchmesser von beispielsweise 4 mm und eine aktive Länge von z.B. 350 mm. Sein in bekannter Weise ausgebildeter Kopf ist nicht dargestellt.

Auf dem größten Teil seiner äußeren Oberfläche ist der Katheter 1 mit einer semipermeablen Membran 2 überzogen. Geeignete Materialien für eine solche Membran sind bekannt und werden z.B. für Sterilfilter, Molekularfilter und zur umgekehrten Osmose benutzt. Diese Stoffe (insbesondere Zelluloseacetat) haben die Eigenschaft, Plasmawasser und darin gelöste Substanzen gut durchzulassen, hochmolekulare und korpuskuläre Bestandteile des Blutes jedoch zurückzuhalten.

Die semipermeable Membran 2 stützt sich auf einer Stützkonstruktion aus Rippen 3 ab, die z.B. parallel zur Längsachse oder schraubenförmig gewunden auf dem Grundkörper 1 des Gefäßkatheters verlaufen.

Ein im Inneren des Katheters verlaufender Kanal 4 endet offen an dessen Oberfläche, um dem Patienten eine unmittelbar in den Blutstrom gelangende Infusionslösung zuführen zu können. Die betreffende Öffnung ist entweder an der Katheterspitze bei 5 oder an der Seite bei 6 vorgesehen. Zwei weitere Kanäle 7 und 8 enden unter der semipermeablen Membran 2 im vorderen und hinteren Bereich des Katheters.

Die genannten Kanäle des Gefäßkatheters sind über dessen Kopf in nicht dargestellter Weise durch Schläuche 16, 17 und 18 mit dem äußeren flüssigkeitsführenden System verbunden. Dieses besteht im gezeigten Beispiel i.w. aus drei Pumpen 9, 10 und 11 und drei Behältern 12, 13 und 14. Die Antriebs- und Steuervorrichtungen der Pumpen und die Pumpen selbst sind herkömmlicher Art. Geringes Gewicht und geringstmöglicher Energieverbrauch sind anzustreben.

Vom Ableitkanal 8 führt ein Schlauch 18 zu einer Filtratpumpe 9, die an ihrer Eingangsseite einen Unterdruck erzeugt. Dieser verteilt sich über das Rippensystem 3 und ist somit in einem großen Bereich der Innenfläche der Membran 2 wirksam. Dadurch wird kontinuierlich aus dem Blut ein Filtrat gewonnen, das aus Wasser und darin gelösten nieder- bis mittelmolekularen Substanzen einschließlich der zu entfernenden harnpflichtigen Substanzen besteht, abhängig von den Filtrationseigenschaften der Membran.

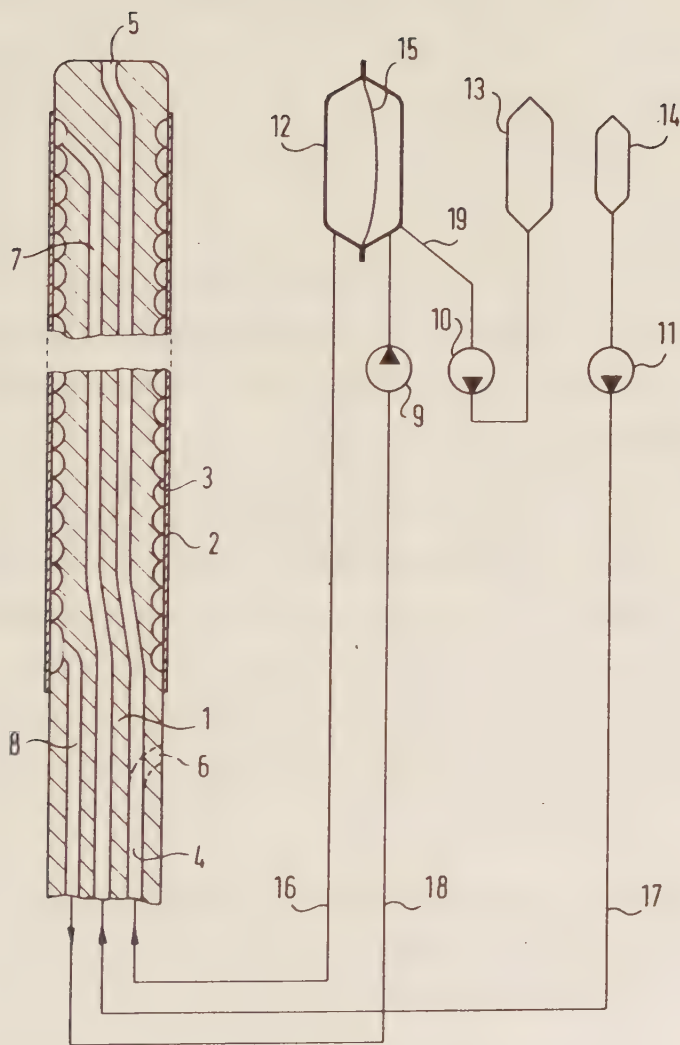
Das gewonnene Filtrat gelangt von der Ausgangsseite der Pumpe 9 in den rechten Teil eines Bilanzierungsbehälters 12. Die beiden Hälften dieses starren Behälters sind durch eine flexible, jedoch flüssigkeitsdichte Membran 15 vollständig voneinander getrennt, so daß ein in die rechte Hälfte eintretendes Flüssigkeitsvolumen ein gleichgroßes Flüssigkeitsvolumen aus der linken Hälfte verdrängt. Diese verdrängte Flüssigkeit gelangt durch die Leitung 16 und den Kanal 4 des Katheters in den Blutkreislauf des Patienten.

Im Anfangszustand ist die linke Hälfte des Bilanzierungsbehälters 12 vollständig mit Infusionslösung gefüllt, so daß die Membran 15 vollständig an der rechten Behälterwand anliegt. Während der Benutzung wird dieser Flüssigkeitsvorrat nach und nach verdrängt und durch Filtrat in der rechten Behälterhälfte ersetzt. Wenn dies vollständig geschehen ist, muß der Bilanzierungsbehälter durch einen neuen, mit Infusionslösung gefüllten Bilanzierungsbehälter ersetzt werden.

Durch die geschilderte Arbeitsweise des Bilanzierungsbehälters ist sichergestellt, daß die Flüssigkeitszufuhr mit dem Flüssigkeitsentzug unter Vernachlässigung der übrigen Teile des Systems übereinstimmt. Um dem Patienten darüberhinaus gezielt eine bestimmte Menge Flüssigkeit zu entziehen, wie es der natürlichen Nierenfunktion entspricht, ist eine Veränderung des beschriebenen Gleichgewichts vorgesehen. Hierzu wird aus der rechten Hälfte des Bilanzierungsbehälters 12 ein Teil des Filtrats über die Leitung 19 und die Pumpe 10 in einen Sammelbehälter 13 abgeleitet. Dieser Teil der Flüssigkeit bleibt somit für die Bilanzierung unwirksam.

Aus einem Spüllösungsbehälter 14 wird über die Pumpe 11 und den Schlauch 17 dem System außerdem eine Flüssigkeit zugeführt, die gerinnungshemmende bzw. thrombolytische und bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkungen hat und vor allem dazu dient, das Wachstum von Krankheitskeimen im Katheter bei längerem Gebrauch auszuschließen. Diese Spüllösung wird durch den Kanal 7 des Katheters am hinteren Ende desselben zugeführt und fließt somit zusammen mit dem Filtrat an der Innenseite der Membran 2 entlang, bis sie schließlich gemeinsam mit dem Filtrat aus dem Kanal 8 über die Leitung 18 und durch die Pumpe 9 in die rechte Hälfte des Bilanzierungsbehälters 12 gefördert wird. Bei der Gesamtbilanz ist dieser zusätzliche Flüssigkeitsanteil sinngemäß zu berücksichtigen.

Der Katheter kann beispielsweise in eine große Vene des Patienten eingeführt werden und dort mehrere Monate verbleiben, da die semipermeable Membran 2 recht haltbar ist. Das äußere Flüssigkeitssystem mit den Pumpen 9 - 11 und den Behältern 12 - 14 kann in kompakter Form ausgebildet und an einer geeigneten Körperstelle befestigt werden.



München, den
101/015

11 1977

Dr. E. Fresenius Chem.-pharm. Industrie KG, Apparatebau KG
6380 Bad Homburg v.d.H.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Tragbare künstliche Niere, bestehend aus einem in den Blutkreislauf einbeziehbaren Stoffaustauscher mit semipermeabler Membran und einem äußeren Flüssigkeitssystem, dadurch gekennzeichnet, daß der Stoffaustauscher als Katheter (1) mit Filtereigenschaften ausgebildet ist, der einen offen in die Oberfläche des Katheters mündenden Infusionskanal (4), ein Stützrippensystem (3) für die semipermeable Membran (2) und unter der Membran endende Zu- und Ableitkanäle (7, 8) aufweist, sowie daß der Ableitkanal (8) mit einer Saugpumpe (9) in Verbindung steht, während der Zuleitkanal (7) zur Zuführung einer Spüllösung und der Infusionskanal (4) zum Ersatz der abfiltrierten Flüssigkeit dienen.
2. Künstliche Niere nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündung (5) des Infusionskanals (4) an der Stirnseite des Katheters liegt.
3. Künstliche Niere nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mündung (6) des Infusionskanals (4) an der Seite des Katheters (1) liegt.

4. Künstliche Niere nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch einen Bilanzierungsbehälter (12) mit einer flüssigkeits- undurchlässigen Membran (15), deren eine Seite mit der Druckseite der Saugpumpe (9) und der andere Seite mit dem offenen Infusionskanal (4) in Verbindung steht.
5. Künstliche Niere nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Druckseite der Saugpumpe (9) ferner über eine weitere Saugpumpe (10) mit einem Sammelbehälter (13) in Verbindung steht.
6. Künstliche Niere nach einem der vorhergehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen Fülllösungsbehälter (14), der über eine Druckpumpe (11) mit dem Zuleitkanal (7) in Verbindung steht.

